

LE ROLE DES MUTANTS D'ESCHERICHIA COLI (MIGULA)
CASTELLANI ET CHALMERS
DANS LA PHYSIO-PATHOLOGIE INTESTINALE

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 13 janvier 1967
devant la Faculté de Pharmacie de Nancy
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(Mention : Pharmacie)

par

Frédéric OSTROM

Pharmacien

Diplômé de Sérologie

Examineurs de la Thèse	{	MM. J.-G. MARCHAL, Professeur, Président E. STEINMETZ, Professeur J. SOLEIL, Professeur	}	Juges
---------------------------	---	---	---	-------

IMPRIMERIE FABRÈGUE
SAINT-YRIEIX

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555003_0008

**LE ROLE DES MUTANTS D'ESCHERICHIA COLI (MIGULA)
CASTELLANI ET CHALMERS
DANS LA PHYSIO-PATHOLOGIE INTESTINALE**

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 13 janvier 1967
devant la Faculté de Pharmacie de Nancy
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(Mention : Pharmacie)

par

Frédéric OSTROM

Pharmacien

Diplômé de Sérologie

Examineurs de la Thèse	{	MM. J.-G. MARCHAL, Professeur, Président	}	Juges
		E. STEINMETZ, Professeur		
		J. SOLEIL, Professeur		

IMPRIMERIE FABRÈGUE

SAINT-YRIEIX

—
1967



UNIVERSITÉ DE NANCY

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

Doyen

Professeur A. BERNANOSE

Assesseur

Professeur A. MEUNIER

Secrétaire principal

B. SEUROT

PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs

M. MEUNIER A.	Pharmacie galénique, chimie
M ^{11e} FRANCOIS M.-Th.	Matière médicale
MM. FRANQUET R.	Botanique
MARCHAL J.-G.	Microbiologie
STEIMETZ E.	Sciences naturelles, toxicologie
SOLEIL J.	Pharmacie chimique
BERNANOSE A.	Physique
M ^{11e} BESSON S.	Pharmacodynamie
M. BENE R.	Sciences biologiques

Professeurs sans chaire

MM. MIRJOLET M.	Chimie analytique
PIERFITTE M.	Chimie biologique
PELT J.-M.	Matière médicale

Maître de conférences agrégé

M. MARTIN J.-A.	Chimie minérale
----------------------	-----------------

Chargés de cours complémentaires

M. MEUNIER A.	Hydrologie ; notions de légis- lation pharmaceutique et d'orientation professionnelle
M ^{11e} FRANCOIS M.-Th.	Hygiène
MM. FRANQUET R.	Cryptogamie
MARCHAL J.-G.	Parasitologie
STEIMETZ E.	Mycologie et minéralogie
SOLEIL J.	Chimie organique
BERNANOSE A.	Optique et acoustique ; phy- sique biologique
M ^{11e} BESSON S.	Application thérapeutique de la pharmacodynamie

MM. BENE R.	Zoologie et biologie
LAGARDE P. (Fac. droit)	Déontologie et législation pharmaceutique
PIERFITTE M.	C. E. S. chimie biologique
PELT J.-M.	Botanique générale
BOYER P.	Notions de mathématiques appliquées aux sciences expérimentales ; physique
LOPPINET V.	Notions de chimie organique
DIXNEUF P.	Travaux dirigés de mathéma- tiques

Chefs de travaux

M ^{me} LASSEUR A.	Microbiologie et parasitologie
M ^{lle} GIRARD Th.	Zoologie et biologie
MM. SIEST G. (Stagiaire)	Chimie biologique
AIMOND P. (Stagiaire)	Chimie analytique quantita- tive
LOPPINET V. (Stagiaire)	Pharmacotechnie chimique
HAYON J.-C. (Stagiaire)	Micrographie
SCHWARTZBROD L. (Stagiaire)	C. E. S. microbiologie
BAUDOT (Stagiaire)	Chimie analytique qualitative
BRAUN (Stagiaire)	Physique
JACQUE (Stagiaire)	Pharmacodynamie
VIGNERON (Stagiaire)	Sciences pharmaceutiques
HOFFMAN	Travaux pratiques de phar- macie galénique

Doyen honoraire : M. RICHARD, Recteur de l'Académie de Montpellier

Professeur honoraire : M. CORDEBARD

Au Président du Jury de ma Thèse,

Monsieur J.-G. MARCHAL
*Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie de Nancy*

A mes Juges,

Monsieur E. STEINMETZ
*Professeur de Sciences Naturelles
à la Faculté de Pharmacie de Nancy*

Monsieur J. SOLEIL
*Professeur de Pharmacie Chimique
à la Faculté de Pharmacie de Nancy*

qui ont bien voulu sacrifier leur temps précieux pour
mettre au point notre travail et y relever les arguments
judicieux et les problèmes prêtant à discussion.

Hommage de très sincère reconnaissance.

Monsieur le Docteur J. DESBORDES
*Directeur du Service de Microbiologie du Laboratoire National
de la Santé Publique de Paris*

instigateur de ce travail et qui, par sa compétence, a pu
nous donner des directives pour son élaboration.

Monsieur J. MEYER
Ancien Professeur agrégé d'Hygiène et de Microbiologie,

nous a encouragé et soutenu au cours de l'expérimentation
de ce travail en nous aidant dans une large mesure à
atteindre le but qui nous a été fixé.

Ils ont droit à notre gratitude toute particulière.

A ma Femme et à mes Enfants,

avec tout mon amour.

A mes Parents,

à qui je dois tout, faible témoignage de ma gratitude et
de mon affection filiale.

A ma Belle-Mère, ma Sœur et mon Frère,

nous exprimons notre sincère attachement.

INTRODUCTION

Nos connaissances sur la physio-pathologie, la structure antigénique et le typage *des Colibacilles* ainsi que sur le traitement des infections qu'ils provoquent, ont tellement évolué dans ces dernières années qu'elles nous semblent justifier une mise au point à laquelle nous voudrions contribuer, pour une faible part, plus particulièrement en ce qui concerne *la sérologie des Escherichia coli*.

Le Colibacille a été isolé pour la première fois en 1885 par ESCHERICH (1) dans les selles d'un nourrisson, à la suite de quoi on a rapidement pensé que la flore humaine intestinale était constituée en grande partie par *des Colibacilles*. En 1891, ACHARD (2) a isolé cette bactérie pyogène dans les urines purulentes confirmant ainsi les observations qu'ALBARRAN (3) avait faites trois ans plus tôt.

FASQUELLE (4) circonscrit clairement le problème lorsqu'il écrit : « Ainsi, dès l'origine, étaient soulignées les deux conditions dans lesquelles ce germe peut intéresser le médecin : comme banal commensal de l'intestin ou comme responsable de manifestations pathologiques, notamment d'ordre urinaire. »

Escherichia coli, symbiote intestinal de l'homme et des animaux, apparaît dans le tube digestif durant les premières heures de la vie. A la naissance, le méconium est stérile, mais très rapidement, en rapport avec l'alimentation lactée, apparaît dans les selles une flore complexe où prédomine, dans les premières semaines, *un ferment lactique anaérobie, Bifidobacterium*, tandis que *les Colibacilles* sont encore peu nombreux. Chez l'homme adulte, ils prédominent largement, dans une proportion de 75 à 80 %, sur les autres germes aérobies et anaérobies, suivant le mode d'alimentation.

Il est facilement compréhensible que les *Escherichia* se répandent dans la nature, le sol et les eaux en particulier, à partir des matières fécales. C'est pourquoi on surveille les eaux potables, en se basant sur *la colimétrie*, c'est-à-dire la numération des Colibacilles. Leur présence permet de dépister une contamination fécale des réservoirs d'eau.

Le rôle pathogène de ce germe dans son habitat normal, l'intestin, a été discuté depuis longtemps. En règle générale, on le considère comme peu important. Seules quelques rares variétés *de Colibacilles*, actuellement identifiées par leur constitution antigénique, peuvent devenir les *agents de diar-*

rhées chez le nourrisson et l'enfant ou même occasionner des *toxicoses mortelles*, comme celles décrites par CLÉMENT, MARIE, LE MINOR et leurs collaborateurs (5).

Le franchissement de la muqueuse intestinale chez l'homme adulte ne paraît possible que lorsqu'il existe une lésion de la paroi intestinale et le *Colibacille* peut déterminer alors des complications infectieuses locales. Par contre, les *localisations extra-intestinales du Colibacille* peuvent engendrer des manifestations pathologiques. Les plus fréquentes concernent les voies urinaires : *pyélonéphrites, cystites* ; les voies biliaires : *cholécystites, abcès sous-phréniques* ; les voies génitales : *orchites, métrites, vulvo-vaginite, etc.*

D'après WORMS et ses collaborateurs (6), le passage de ces germes dans la circulation témoigne plus souvent d'une bactériémie de décharge que d'une septicémie vraie.

Toutes ces notions ont trouvé leur application dans la *discussion des trois problèmes essentiels concernant les Colibacilles* : celui de la flore intestinale normale et de ses variations, celui des contaminations par les *Colibacilles* exogènes particulièrement pathogènes et celui de la physiopathologie des infections à *Colibacilles*.

VINCENT (7) avait décrit *deux toxines* chez le *Colibacille* : une *exotoxine neurotrope*, obtenue par filtration, thermolabile, dont l'injection à l'animal provoque des parésies et des contractures ; une *endotoxine entérotrope*, thermostable, préparée par la lyse enzymatique des Bactéries séparées par centrifugation, déterminant par injection intrapéritonéale aux animaux de laboratoire une congestion de l'intestin grêle et une inflammation des *plaques de Peyer* (voir à ce sujet la monographie de A. DELAUNAY : « *Importance des Endotoxines* » dans « LE MONDE DES MICROBES ». Ed. Kister, Genève, 1961, p. 27).

L'existence de l'*exotoxine* n'a pas pu être confirmée ; l'*endotoxine* paraît correspondre à l'antigène somatique 0 du germe. D'autre part, les *Colibacilles* élaborent diverses substances toxiques : la *colilysine* qui est une hémolysine attaquant les hématies du cheval et du chien : la *colicine* qui est un produit élaboré par certains *Colibacilles* seulement et qui détruit certains autres germes, tels que les *Salmonella*, les *Shigella* et même d'autres variétés d'*Escherichia*. Ces substances jouent vraisemblablement un rôle dans la régulation de la flore intestinale.

Mentionnons avant de terminer, la *pénicillinase*, qui est également un produit élaboré par les *Colibacilles* et qui décompose, comme on le sait, la *Pénicilline* et la rend inactive. L'existence de cet enzyme explique à la fois la résistance du *Colibacille* à cet antibiotique et la destruction de celui-ci dans le gros intestin.

BOIVIN (8) a pu montrer qu'on pouvait *in vitro* induire des mutations de types, en cultivant une forme rugueuse d'un certain type en présence de germes S tirés d'un autre type, ce qui laisse penser que des phénomènes analogues doivent se dérouler dans la flore complexe intestinale entre les

Entérobactéries d'espèces différentes qui seraient les témoins de telles recombinaisons antigéniques.

Nous aurons l'occasion de revenir sur ce problème qui touche de près à l'immunologie dans *nos travaux personnels*, car il pourrait servir de base à notre conception sur l'activité du traitement *des Colibacilloses* par les cultures vivantes.

PLAN DE TRAVAIL

Nous divisons notre travail *en deux parties* :

La première est réservée à l'*historique* de la flore microbienne intestinale.

Le premier chapitre a trait à la physiologie du tube digestif et à sa flore microbienne. *Dans le deuxième chapitre* nous envisageons la composition de la flore intestinale pathologique aspécifique. Il s'agit principalement des *Colibacillooses* et de leur thérapeutique classique, qui comporte les médications biologiques, chimiques et antibiotiques.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous exposons *nos travaux personnels*.

Le chapitre III a trait aux milieux de culture utilisés généralement pour caractériser la flore intestinale. Nous décrivons les techniques modernes de préparation de ces substrats, permettant le diagnostic différentiel *des différentes Entérobactéries* et surtout la flore physiologique atypique *des Coliformes*.

A ce sujet nous tenons à donner dans *le chapitre IV*, les propriétés sérologiques et lysogéniques *des Escherichia*, apportant ainsi un aspect nouveau du problème de l'identification et de la caractérisation différentielle de la *Coliflore*.

La lysogénie et la lysotypie nous permettent d'apporter des arguments précieux pour expliquer les phénomènes de mutation et de recombinaison que l'élaboration de notre sujet nous pose.

Dans le chapitre V, nous étudions le comportement de *la flore intestinale normale*. Nos expériences personnelles apportent une contribution à l'importance de la *Coliflore* dans le fonctionnement physiologique du tube digestif et nous permettent d'envisager une discussion sur le rôle qualitatif et quantitatif *des Escherichia* par rapport aux *autres Enterobactéries* Gram+ et Gram—, aérobies et anaérobies.

Des essais de *bactériothérapie buccale* avec des souches mutants d'*Escherichia coli* à propriétés biochimiques et immunologiques nettement définies, constituent le sujet de *notre chapitre VI*.

Finalement, nous essayons dans les *Conclusions générales* de résumer et d'argumenter les résultats de nos investigations expérimentales concernant ce problème et l'importance physiologique et clinique *des Escherichia coli* dans le fonctionnement des processus digestifs normaux et dans les troubles intestinaux non spécifiques.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I

LA PHYSIOLOGIE DU TUBE DIGESTIF ET SA FLORE BACTÉRIENNE

Si chez l'homme normal dépourvu de troubles digestifs on pratique des prélèvements au niveau des différentes parties de l'appareil gastro-intestinal, l'examen bactériologique montre que chaque fraction de l'intestin possède sa flore bactérienne spécifique. On trouve donc dans chaque région des espèces nettement définies, adaptées et localisées à ce domaine.

Ainsi, nous savons que *l'estomac et le duodenum de l'homme normal*, du fait de leur acidité, sont pratiquement stériles. La pullulation des bactéries débute seulement dans *le jéjunum* et se produit en augmentant graduellement vers les parties inférieures de l'intestin. Dans la fraction supérieure *du jéjunum*, nous trouvons principalement des *Entérocoques* auxquels s'associent, dans la région médiane, les bactéries de la fermentation lactique, tels que *Bacillus acidophilus*, *Bifidibacterium bifidum*, existant surtout chez les nourrissons. Au niveau de *l'iléon*, s'y ajoute encore *Aerobacter aerogenes* et *Escherichia coli*.

« La localisation de cette flore physiologique obligatoire du grêle est strictement en rapport avec les modifications successives du pH du chyme intestinal. » [GOIFFON (8).]

Au point de vue biologique, il est important de retenir que les bactéries du grêle transforment les glucides en *acide lactique* ; celui-ci constitue un antiseptique très actif contre les germes de la fermentation putride. *Les Bactéries lactiques* de la flore du grêle n'attaquent ni les corps protéiques, ni les graisses, ni les glucides à poids moléculaire élevé. Elles se nourrissent au moyen des produits de dégradation élaborés par les ferments digestifs naturels, c'est-à-dire les acides aminés et les mono et di-saccharides facilement fermentescibles.

De cette façon l'intestin grêle, qui est l'organe essentiel de l'absorption des aliments dégradés par les processus physiologiques normaux de la digestion, est protégé contre les fermentations bactériennes anormales et pathologiques. En effet, les microbes hétérogènes introduits avec les différents aliments ne peuvent ni se fixer, ni se multiplier et sont éliminés avec les fécès, le plus souvent à l'état de cadavre. Ce fait se produit pour la plupart des bactéries absorbées accidentellement avec les aliments, à l'exception des bacilles des familles *Escherichia*, *Salmonella*, des germes dysentériques et des bacilles acido-alcool-résistants qui sont adaptés à la fermentation lactique, ou plus ou moins résistants, au pouvoir antiseptique de l'acide lactique.

Les produits de la dégradation protéique et glucidique non résorbés subissent dans le *cæcum* une attaque bactérienne intense. En effet, on trouve à ce niveau *Plectridium putrificum*, *Welchia perfringens*, bactéries anaérobies strictes, protéolytiques et surtout peptolytiques, ainsi que *Bacillus saccharobutylicus*, bactérie anaérobie également, mais glucidolytique par excellence. La dégradation des oses et des lipoprotides est équilibrée par *Welchia perfringens*, comme SEELIGER (9) et son école l'ont montré. Ces trois espèces, vivant comme microbes physiologiquement obligatoires dans le *cæcum*, sont associées aux *Colibacilles* qui se trouvent comme espèce dominante dans tout le *côlon*.

Les produits alcalins dérivant de la dégradation protéique qui apparaissent dans le *cæcum*, sont neutralisés par les dérivés acides de la fermentation glucidique, de sorte que le *côlon normal* présente toujours une réaction sensiblement neutre.

Par la présence de *cystine*, provenant de la dégradation des protéines alimentaires, il se forme dans le *cæcum* un système enzymatique de deshydrases très actives : la cystine est en effet réduite par *Plectridium putrificum* en cystéine. L'Hydrogène très labile de cette dernière est fixée par les deshydrogénases de *Escherichia coli* sur les produits susceptibles d'hydrogénation. Ainsi s'effectue au niveau du *cæcum* la transformation de la bilirubine en stercobiline, du cholestérol en coprostérine, de l'acide cholique non assimilé en acide désoxycholique, de la chlorophylle des légumes en phyloérythrogène, etc.

Au point de vue biologique, il est intéressant que ces systèmes enzymatiques de deshydrases ne réduisent par hydrogénation que les produits naturels qui traversent le tube digestif physiologiquement normal. Ainsi la bilirubine, amenée dans l'intestin avec la bile dans les cholécystites ou autres inflammations des voies biliaires, n'est pas réduite en bilirubine et les matières fécales présentent dans ce cas une teinte verdâtre.

Parmi la flore microbienne physiologiquement obligatoire, le *Colibacille* occupe une place particulière. Il possède un pouvoir d'adaptation très prononcé et un appareil enzymatique excessivement développé, qui lui confère un métabolisme très actif. Le *Colibacille* peut ainsi synthétiser dans l'intestin un grand nombre de vitamines, parmi lesquelles nous mentionnerons principalement la vitamine K, importante pour la formation de la prothrom-

bine et l'*acide folique* qui intervient dans l'élaboration des hématies et des leucocytes. On sait d'ailleurs, que l'*acide folique* joue également un rôle dans le processus d'assimilation des animaux, fait qui a été prouvé cliniquement par la guérison de troubles digestifs et de diarrhées après administration de cette vitamine.

L'importance biologique des autres vitamines synthétisées par *Escherichia coli* mérite également d'être mentionnée. Citons par exemple l'*acide para-aminobenzoïque*, l'*acide pantothénique*, la *biotine* et l'*amide nicotinique*. Ces vitamines jouent probablement un rôle important comme facteurs de croissance nécessaires au *Colibacille* pour lutter contre les germes hétérogènes et pathogènes de l'intestin. On sait que *Escherichia coli* possède un pouvoir antagoniste très marqué contre les bactéries pathogènes et surtout contre le *Bacille Tuberculeux*. On peut expliquer aujourd'hui ce phénomène par la production intense par le *Colibacille* d'*Amide nicotinique* dont le dérivé : l'*Isoniazide* est un médicament spécifique de la tuberculose. D'autre part, *Escherichia coli* élabore de grandes quantités d'*acide palmitique* et d'*acides gras éthyléniques*, tels que les *acides pélargonique*, *arachidonique* et *undécylénique* qui, comme nous le savons, sont également des antituberculeux et surtout des antifongiques. L'élimination des champignons inférieurs pathogènes : *Aspergillus*, *Pénicillium*, les autres moisissures, les *Levures*, les *Trichophytons*, les *Dermatophytes*, etc. est ainsi favorisée par cette bactérie, symbiote obligatoire du tube digestif.

Notons que l'opinion émise par ESCHERICH, qui a découvert le *Colibacille*, et selon laquelle ce germe serait acclimaté à l'intestin de chaque individu, c'est-à-dire que chaque homme posséderait sa propre souche individuelle, est devenue caduque depuis les travaux de BOIVIN et de Mlle CORRE (9). Leur méthode d'identification des antigènes O des *Escherichia coli* a mis en évidence les faits suivants :

1. A un moment donné, la flore intestinale normale d'un sujet est composée de plusieurs *Colibacilles* de types différents ;
2. En quelques mois, cette flore se renouvelle du tout au tout ;
3. La variabilité de cette flore est immense d'un sujet à l'autre, tant est formidable le nombre de types possibles, mais cette flore présente des analogies chez les sujets vivant au contact les uns des autres.

Cette opinion est rapportée par FASQUELLE (4). Toujours est-il que les *Colibacilles* réalisent constamment des processus de protection et de défense antimicrobienne et vivent par conséquent en symbiose immunobiologique naturelle et équilibrée avec la muqueuse intestinale.

Si l'on traite un homme sain pendant plusieurs jours au moyen de *Sulfamides* ou de *Chloramphénicol*, ses matières fécales sont dépourvues d'*Escherichia* viables. Le traitement une fois interrompu, on constate après quelques jours la présence dans les fécès des souches initiales et individuelles de *Colibacilles*. Ce fait n'est pourtant valable que pour un traitement de courte durée. Il existe donc un équilibre naturel entre la muqueuse intestinale et sa flore microbienne, qui satisfait à toutes les conditions du processus fonctionnel du système gastro-intestinal sain.

Au cours de troubles intestinaux non spécifiques, pouvant être d'origine alimentaire, fonctionnelle, toxique, nerveuse ou hormonale, l'harmonie naturelle entre les différentes espèces de la flore intestinale est plus ou moins touchée. Ce fait peut être dû au changement de la localisation spécifique de chaque espèce microbienne dans l'intestin ou à une pullulation de germes anormaux exogènes, ou encore à un processus de dégénérescence et d'involution des bactéries intestinales obligatoires et naturelles. Ces facteurs peuvent modifier défavorablement les fonctions biologiques de la flore microbienne naturelle de l'intestin.

Ces différentes modifications de la flore bactérienne sont la cause directe des troubles pathologiques connus en clinique par leur symptomatologie de *gastro-entérite*, *d'entéro-colite*, *de colite*, *de constipation*, etc., comme GOIFFON (9), FASQUELLE (10) et d'autres auteurs le soulignent. Les conséquences pathologiques sont : flatulence, spasmes intestinaux, allergie alimentaire, etc.

pathologiques sont : flatulence, spasmes intestinaux, allergie alimentaire, etc.

Ainsi, nous comprenons facilement que ces affections intestinales non spécifiques ne cèdent ni aux sulfamides, ni aux antibiotiques.

Dans ces dernières années, on a essayé de remédier à la modification de la flore intestinale au cours de ces affections non spécifiques ou par suite d'antibiothérapie, par *l'implantation de souches vivantes de Colibacilles* dans le tube digestif ; citons à ce sujet les travaux de NISSLE (11) et de BAUMGAERTEL (12). Le contrôle de l'efficacité de cette médication a nécessité un certain nombre d'expériences préliminaires.

En effet, *Escherichia coli* a été longtemps considéré comme un germe prédominant dans le tube digestif ; seuls, un certain nombre d'auteurs, comme DUMAS (13), REPLOCH (14), SEELIGER (9 *b*) et surtout quelques chercheurs américains comme ZUBRZYCKI et SPAULDING (15) ont fait remarquer que les *anaérobies* constituent la flore prédominante dans les matières fécales de l'homme adulte. D'autre part, à la suite des traitements modernes, on sait que *Escherichia coli* subit facilement une dégénérescence et se transforme en éléments involutifs que l'on désignait par le terme de *Coliforme* ou *Paracoli*. Ces faits nous ont conduit à étudier tout d'abord la composition de la flore normale dans les matières fécales et, d'autre part, de caractériser les différents groupes d'*Escherichia* et de *Coliformes* que l'on proposait de classer récemment en plusieurs sous-groupes dont les principaux sont : *Hafnia*, *Providencia* et *Arizona* [PRÉVOT (16)].

À la lumière des considérations actuelles sur la flore intestinale, nous avons jugé intéressant de donner tout d'abord un exposé succinct sur la conception de la *colibacilliose* et de sa *thérapie moderne*.

CHAPITRE II

LA COLIBACILLOSE ET SA THÉRAPEUTIQUE CLASSIQUE

Pour bien comprendre le traitement des *colibacilloses*, il est indispensable de rappeler quelques notions cliniques et pathologiques.

Escherichia coli est un hôte normal de l'intestin et des voies génitales inférieures. Comme tout saprophyte, il peut devenir pathogène et provoquer des manifestations morbides qui embrassent toute la pathologie et dont l'ensemble constitue ce qu'il est convenu d'appeler « *colibacillose* ».

Mais le plus souvent, ce germe intervient secondairement, là où il existe déjà un trouble, une lésion, une malformation ou encore une autre infection.

Ainsi, il participe à certaines affections relevant de la chirurgie :

SUPPURATIONS URINAIRES : *cystite, pyélite, pyélonéphrite, phlegmon périnéphritique*, nés d'un obstacle entravant le cours des urines ; *hydronéphrose, lithiase, hypertrophie de la prostate, tumeur pelvienne, rétrécissement de l'urètre*, etc. Cette infection provoque les grands accès de la « *fièvre urinaire* » qui traduisent une poussée de septicémie colibacillaire.

APPENDICITE RÉTROCÆCALE ET INFECTIONS GÉNITALES : *métrite, salpingite, phlegmon génital, orchi-épididymite*.

SUPPURATIONS BILIAIRES : secondaires à un obstacle entravant l'écoulement de la bile : *cancer des voies pancréato-biliaires et surtout lithiase* ; le Colibacille est le grand agent des complications infectieuses de la lithiase biliaire.

Parti de ces foyers locaux, le Colibacille peut envahir la circulation sanguine et réaliser soit une simple bactériémie, soit une septicémie qui, suivant les cas, affectera l'allure des *grandes pyohémies* ou rappellera l'évolution d'une *dothiementérie*.

Dans tous les cas, le traitement sera avant tout chirurgical et consistera à supprimer la raison qui a fait du Colibacille un agent pathogène. Il faudra y associer un traitement médical qui se limitera pratiquement aux antibiotiques.

Les affections urinaires, entraînant une stase urinaire, favorisent la pullulation locale du germe. Outre les altérations grossières (calcul, tuberculose, cancer, etc.) déjà envisagées, il existe souvent des lésions discrètes, telles que coudure urétérale, dilatation congénitale, rein mobile, compression par une tumeur ou une grossesse, lésion médullaire avec troubles sphinctériens, responsables de la localisation infectieuse par la stase qu'elles provoquent dans les voies urinaires supérieures.

On parlait beaucoup autrefois de *l'infection intestinale* dans laquelle les antiseptiques intestinaux et les vaccins ont connu un succès sans précédent.

On sait aujourd'hui que cette prétendue infection ne fait que traduire une altération fonctionnelle ou organique de l'intestin. Toutefois, *ces altérations intestinales peuvent exalter la virulence du Colibacille*, le rendre pathogène pour les voies urinaires et créer ce qu'on appelle *le syndrome entéro-rénal ou entéro-urinaire*. Ce syndrome traduit une infection urinaire d'origine intestinale, infection qui s'est propagée par voie sanguine. Ce ne sont pas seulement les larges ulcérations intestinales qui favorisent l'exode du microbe ; les lésions anatomiques minimales ou même le simple passage physiologique peuvent se produire, expliquant ainsi le rôle du terrain dans la genèse de cette infection, qui peut atteindre les personnes de tout âge, même les nourrissons et surtout les femmes.

Cette infection réalise une bactériurie simple, qui n'a aucune signification pathologique supplémentaire ; elle n'est que le témoin d'un trouble, le plus souvent intestinal. Ce trouble corrigé, elle disparaîtra.

Elle peut également provoquer une *bactériurie purulente ou pyurie*, dont l'aspect clinique sera une *cystite* ou une *pyélonéphrite* qui elles, demandent un traitement approprié. Elles ne guériront définitivement que si l'on corrige le trouble causal, dont les formes sont multiples et complexes :

Il peut s'agir d'une *colite*, d'une *stase intestinale*, d'une *constipation chronique fonctionnelle* ou *lésionnelle* (sténose, précolite), d'une *ptose intestinale*, d'une *intoxication alimentaire*, d'un régime non approprié ou déséquilibré, carencé, d'une *hypovitaminose*, d'une *infestation parasitaire* (protozoaires, vers intestinaux), d'une *affection gynécologique* (tumeur pelvienne), d'une *grossesse*.

L'*hyperfolliculinémie*, par exemple, semble agir sur la motricité pyélo-urétérale et vésicale. Elle augmenterait la virulence des *Escherichia coli*, sensibiliserait l'organisme à ses toxines et provoquerait des congestions locales. La guérison de ces affections est obtenue électivement par le traitement hormonal antagoniste de l'hyperfolliculinémie. Les accidents urinaires de la ménopause et la dilatation gravidique du bassinet et de l'uretère relèveraient d'une augmentation du taux des hormones gonadotropes dans le sang et les urines. On voit ainsi l'intérêt qu'il y a à examiner complètement un malade qui présente une infection à *Colibacilles*, afin de dépister une lésion ou un trouble fonctionnel qui siège souvent loin de l'intestin, mais qui entretient une maladie intestinale capable de créer l'infection urinaire.

On a invoqué aussi l'*oxalurie* : le passage des cristaux oxaliques irritant la muqueuse et les réactions du milieu urinaire. *Escherichia coli* ne peut

vivre, ni dans les urines très acides, ni dans les urines très alcalines ; l'infection peut être entretenue par un état d'hypo-acidité, d'alcalinité discrète ou de neutralité de l'urine dont le pH normal est de 5,8, donc en zone nettement acide ce qui expliquerait la *non-pullulation du Colibacille* dans une urine normale. C'est ainsi que l'on a entrepris des tentatives thérapeutiques basées sur un régime contre l'*oxalurie* et sur les modifications de l'*acidité ionique* de l'urine.

On voit ainsi que la *colibacillose pure* est assez rare. Elle aurait son point de départ dans l'intestin et son point d'arrivée dans l'appareil urinaire. Sa voie d'accès est la voie sanguine. Les propriétés agressives du *Colibacille* proviennent de sa toxicité et de sa virulence. Cette virulence, nulle à l'état normal, ne devient réelle que quand le *Colibacille* a franchi la barrière intestinale. L'étape sanguine de la colibacillose est habituellement très courte et souvent difficile à déceler. Enfin, le microbe envahit les organes et particulièrement l'appareil urinaire, parfois les voies biliaires ou les organes génitaux ; une altération locale est nécessaire pour localiser l'infection. Contre l'infection colibacillaire se dresse rapidement une sorte d'immunité générale, alors que le germe peut continuer à végéter dans les urines.

Sacrifiant à la mode, on pose trop facilement le diagnostic de *colibacillose* — diagnostic qui plaît au malade et trop souvent aussi, satisfait le médecin — parce que au cours d'un vague syndrome pyélo-cystique, on a découvert *Escherichia coli* dans les urines. Il est pourtant indispensable de se rappeler que la constatation de la présence du *Colibacille* dans les urines est banale, qu'on peut l'observer dans toutes les affections urinaires d'ordre chirurgical et qu'il n'intervient pas primitivement mais secondairement, là où il existe déjà une lésion, une malformation ou une autre infection. S'il y a des *colibacilloses idiopathiques*, au moins en apparence liées à une infection génitale chez la femme ou à un état intestinal, il y en a beaucoup d'autres où le *Colibacille* est un microbe surajouté à une altération organique de l'appareil urinaire. Cette altération, parfois difficile à mettre en évidence, peut siéger du méat urétral jusqu'au rein. Il est indispensable de distinguer la colibacillose survenant sur un appareil urinaire sain et la colibacillose d'un appareil porteur d'une affection justiciable de la chirurgie.

Le diagnostic d'une colibacillose pure ou associée n'exige pas toujours des examens spécialisés. Un examen clinique approfondi doit les précéder et les diriger. Beaucoup de colibacilloses consécutives à une affection d'origine chirurgicale peuvent être dépourvues d'une partie ou de tous leurs signes classiques et peuvent masquer une maladie beaucoup plus grave, comme une tuberculose urinaire par exemple. Les examens indispensables à pratiquer dans ce but sont essentiellement d'ordre bactériologique et radiologique.

En résumé, la colibacillose peut se traduire par une simple bactériurie, par un état infectieux sans localisation ou à diverses localisations. La bacilémie est en général sans gravité sauf si elle se localise sur l'arbre urinaire à la faveur d'un état local défectueux. La septicémie colibacillaire est rare. Elle prend l'allure d'une infection grave. Le seul moyen de diagnostic est fourni par l'hémoculture qu'il reste à interpréter, car il ne faut pas confon-

dre bactériémie et septicémie ; le *Colibacille* peut n'être qu'un germe de sortie comme il peut s'associer à d'autres germes.

Le traitement de la colibacillose est avant tout étiologique. Parfois une intervention chirurgicale au niveau du foyer causal primaire peut supprimer l'infection urinaire secondaire.

Les sulfamides et les antibiotiques ont complètement transformé le traitement et le pronostic des colibacilloses. Pour la première fois, nous possédons des moyens thérapeutiques efficaces. Evidemment, ces médicaments ne peuvent pas, à eux seuls, résoudre le problème de la thérapeutique des colibacilloses secondaires. Mais, agissant sur les formes graves de la maladie et supprimant, du moins pour un temps, les poussées aiguës de l'infection, ils laissent le temps au médecin et au spécialiste de chercher la cause qui entretient l'infection. Ils permettent au chirurgien, s'il doit intervenir, de le faire dans de bonnes conditions et avec un minimum de risques.

Nous allons à présent passer rapidement en revue la médication classique antérieure aux antibiotiques, puis la sulfamidothérapie et la mycothérapie des colibacilloses.

THERAPEUTIQUE CLASSIQUE

Médication biologique

Elle comporte la vaccinothérapie (bactériothérapie) et la sérothérapie (MASCHAS H. [17]). Ces méthodes ont toujours donné des résultats médiocres parce qu'il est actuellement notoire qu'il existe un grand nombre d'*Escherichia coli* antigéniquement et génétiquement distincts et qu'un même individu peut héberger dans son intestin des types différents d'*Escherichia*.

Ces faits on trouvé récemment leur explication par la découverte de la sexualité et des échanges génétiques chez les bactéries. Nous empruntons à ce sujet, quelques données à G. MACCARO (18). Les bactéries possèdent la propriété de transfert d'information génétique d'une cellule à l'autre par l'acide desoxyribonucléique (ADN). Ce phénomène est assuré chez les bactéries par trois mécanismes de transfert qui ont respectivement reçu les noms de : *transformation*, *transduction* et *recombinaison*. Nous envisageons les deux premiers processus dans un chapitre ultérieur. Nous voudrions cependant insister, déjà ici, sur le mécanisme de la recombinaison expliquant la fréquence de mutation de divers types d'*Escherichia coli*.

En 1952, HAYES (19) en Grande-Bretagne, CAVALLI (20) en Italie et LEDERBERG (21) aux Etats-Unis ont observé que les cellules de *Escherichia coli* ne sont pas toutes capables de se conjuguer avec d'autres cellules. Il faut distinguer deux types : F + et F — (F = fertilité) que l'on définit ainsi : F — x F — donnent des croisements non féconds, F + x F — des croisements relativement peu féconds, F + x F + enfin, donnent des croisements beaucoup plus féconds. Ces chercheurs ont ensuite remarqué que les cellules F — et F +, ayant cru sur le même milieu, donnent toujours dans leur descendance du F +. D'autre part, ils ont trouvé que dans un croi-

sement $F + \times F -$, la contribution génétique des deux cellules parentes est inégale, l'individu formé ayant toujours beaucoup plus de caractères du parent $F -$ que du parent $F +$. Deux types sexuels bactériens apparaissent ainsi : la cellule femelle $F -$, incapable de se croiser avec d'autres cellules du même sexe et contribuant avec tout son cytoplasme et son équipement génique à la constitution du *recombinant*, reçoit des gènes (en général, elle n'en reçoit qu'une partie) du génome de la cellule mâle $F +$.

En réalité, il existe encore un autre type de cellule mâle. CAVALLI (20) ainsi que HAYES (19) trouvèrent par hasard que *les mutants de Escherichia coli*, croisés avec d'autres de type $F -$, donnent des croisements de cent à mille fois plus féconds que d'ordinaire. Ces types ont reçu l'appellation Hfr (*high frequency of recombinaison* : haute fréquence de recombinaison).

En étudiant la cynétique des croisements des cellules Hfr avec des souches $F -$, JACOB, WOLLMAN (22) ainsi que HAYES (19) ont réussi à interrompre un croisement de ces *Escherichia* dans ces phases successives et de déterminer pour chacune d'elles, le nombre et le type des recombinants qui y avaient pris place. Ils ont ainsi noté que :

1. Le transfert des gènes de la cellule Hfr (mâle) à la cellule $F -$ (femelle) est ordonné dans le temps de telle manière qu'une souche Hfr donnée transfère toujours en premier lieu le gène A, puis le gène B, puis le gène C et ainsi de suite ;

2. L'ordre du transfert rappelle l'ordre qu'occupent les gènes sur le chromosome ;

3. Les durées de transfert d'un gène à l'autre sont proportionnelles à la distance de ces gènes sur le chromosome.

Il est résulté de ces observations que, contrairement à ce que l'on avait cru pendant quelques temps, la conjugaison ne se rapporte qu'au transfert du chromosome, celui-ci passant dans la cellule femelle en commençant toujours par le même gène et en continuant dans la même direction.

En étudiant un certain nombre de souches Hfr fournies par *Escherichia coli*, JACOB et WOLLMAN (22) ont fait trois autres découvertes étonnantes :

1. Le chromosome Hfr ne commence pas toujours avec les mêmes gènes ;
2. Toutefois, l'ordre de ceux-ci demeure inchangé ;
3. Cela, même si, pour certaines souches, l'ordre est exactement renversé.

Ainsi, pour la séquence de gènes ABCDEF, on a des souches Hfr avec chromosome CDEF, GAB ou DCBAGFE par exemple, mais on n'a jamais un chromosome BCDGAEF.

Les faits que nous venons d'exposer mettent en évidence l'apparition fréquente de types à caractères biochimiques et biologiques fort différents. Nous aurons l'occasion de revenir sur ces données ultérieurement.

Avant de revenir à notre exposé sur la thérapeutique, nous tenons à préciser d'une façon succincte nos connaissances actuelles sur la constitution antigénique des *Escherichia* qui sont doués de deux sortes d'antigènes généralement présents chez les germes ciliés et mobiles : les antigènes H, flagellaires et de constitution protéique ; les antigènes O, somatiques, glucido-lipido-polypeptidiques et caractéristiques de chaque type.

Devant la difficulté de pouvoir identifier ces antigènes O par l'agglutination par des antisérums, BOIVIN (23) a proposé de les extraire par l'acide trichloracétique et de les reconnaître par la précipitation sous l'action de sérums spécifiques ; *ainsi une classification des Colibacilles est-elle possible, d'après les antigènes dont ils sont porteurs.*

Mais, comme KAUFMANN (24) l'a montré ultérieurement, la constitution antigénique des *Colibacilles* est complexe ; en effet une troisième catégorie d'antigènes doit être envisagée, sous le nom d'antigène K : les antigènes d'enveloppe.

Ces antigènes K sont eux-mêmes composés de trois variétés d'antigènes. deux antigènes thermolabiles dits L et B (un peu comparables à l'antigène Vi des salmonelles) et un antigène thermostable A, particulier aux *Colibacilles* capsulés.

Ces antigènes K recouvrent les germes et donc l'antigène O sous-jacent : ce sont eux qui peuvent rendre les germes O inagglutinables ; la destruction des antigènes d'enveloppe par contre peut faire apparaître l'agglutinabilité O.

Mais un fait concernant les antigènes K est encore plus intéressant et d'ailleurs jusqu'à présent inexpliqué : c'est que les *Colibacilles pathogènes responsables des gastro-entérites infantiles et des toxicoses* sont riches en antigènes K et notamment en antigènes L et B.

Dans la classification de KAUFMANN (24), les *Colibacilles* sont donc dénommés non seulement d'après les antigènes O qu'ils possèdent, mais aussi d'après les antigènes d'enveloppe dont ils sont porteurs. Ainsi les trois types les plus souvent rencontrés de *Colibacilles pathogènes* sont-ils définis : O 111, B 4 —, O 55, B 5 —, O 26, B 6 ; mais il en existe d'autres (BUTTIAUX [25]).

On se rend compte ainsi de la multiplicité des types d'*Escherichia* et de la fréquence de leur mutation d'un type à l'autre, surtout s'ils vivent ou végètent dans un milieu biologique à l'état physiologique ou pathologique souvent très différent.

Médications chimiques

Les médicaments chimiques les plus usuels employés avant l'ère des antibiotiques ont été :

L'hexaméthylène-tétramine ou Urotropine, qui possède en plus une action acidifiante ; elle est administrée par voie buccale ou en injections intra-veineuses, seule ou associée au *salicylate de soude* ;

L'acide benzoïque et les benzoates alcalins, seuls ou associés à l'*Urotropine* ;

Le phényl-azo-diamino-pyridine ou pyri-pyridium, en dragées ;

Le bleu de méthylène, en pilules.

L'action antimicrobienne relative de ces médicaments se double d'une action irritante sur l'épithélium rénal et même, comme l'*Urotropine*, sur la vessie ; il faut donc surveiller leur administration et modifier les doses suivant la réaction du malade.

Dans le traitement de la *colibacillose*, on a recours également à une *médication acidifiante* ; l'acidification des urines peut être obtenue par :

L'acide phosphorique ;

Les sels d'ammonium et le chlorure de calcium ;

L'acide mandélique ou mieux, le mandélate d'ammonium qui est le médicament le plus actif et le mieux toléré. Il n'agit en fait que sur la pyélite simple et la cystite, mais non sur la pyélonéphrite. Il est contre-indiqué en cas d'azotémie ou d'insuffisance rénale.

Ce traitement, d'une durée de trois ou quatre jours dans les cas aigus, de huit à dix jours dans les cas chroniques, était associé à un régime à base de viande pour acidifier les urines en restreignant les boissons à 750 ou 1 000 ml par vingt-quatre heures pour augmenter la concentration des urines.

Les sulfamides : antibiotiques synthétiques

Leur action anticolibacillaire n'est pas constante, pourtant c'est avec ces corps qu'on a obtenu pour la première fois des résultats probants aussi bien contre les pyélites aiguës ou chroniques que contre des pyélonéphrites banales ou traînant depuis plusieurs années. Mais si les *sulfamides* stérilisent facilement et rapidement les urines, ils n'empêchent pas les rechutes, dues aux qualités propres du microbe et du terrain. Actuellement, les laboratoires pharmaceutiques proposent de nouveaux corps sulfamidés dont l'activité est plus spécifiquement anticolibacillaire, comme par exemple l'*Irgafène*, la *Gantrisine*, le *Rufol* et le *Vertolan*. Tous ces corps sont efficaces même à faibles doses ; ils sont très solubles, ce qui permet leur administration par voie intraveineuse et intramusculaire. Enfin, on sait que l'administration simultanée de plusieurs sortes de sulfamides augmente leur efficacité et diminue leur toxicité.

Nous avons longuement parlé du rôle de l'infection intestinale comme origine de certaines colibacilloses. A côté de la *sulfamidothérapie générale*, étant donné le rôle initial de l'infection intestinale dans les colibacilloses, quelques auteurs ont recommandé la prescription des *sulfamides dits « intestinaux »* qui devaient donner de meilleurs résultats thérapeutiques dans les pyélites et pyélonéphrites.

Les antibiotiques biologiques proprement dits

LA STREPTOMYCINE

La voie d'administration habituelle de cet antibiotique est l'injection intramusculaire ; son élimination se fait par les urines où on la trouve à haute concentration, ce qui a pour conséquence une destruction rapide des germes, surtout lorsque les urines sont alcalines.

On peut associer la *Streptomycine* au *Sulfathiazol*, ce qui constitue une excellente synergie et à la *Pénicilline* en cas d'infection mixte.

L'alcalinisation des urines, toujours indispensable, sera obtenue par les alcalins classiques (Bicarbonate de soude, Citrate de potassium) ; certains auteurs conseillent même de pratiquer cette alcalinisation deux jours avant la première injection de l'antibiotique.

Rappelons que les corps étrangers, les calculs, les calculiers, les causes de stases et même le cathétérisme pour certains peuvent engendrer la streptomycino-résistance.

Les dangers de la streptomycinothérapie.

Les divers accidents que l'on peut rencontrer sont plus rares avec la Dihydrostreptomycine qui a pratiquement remplacé aujourd'hui la Streptomycine. Il est moins fréquent de rencontrer des accidents toxiques au cours de la streptomycinothérapie des colibacilloses, puisque le traitement s'achève rarement douze jours.

En résumé, on peut dire que le traitement des colibacilloses par la Streptomycine donne des résultats variables suivant la résistance des germes, la rapidité d'installation de la streptomycino-résistance, le degré d'alcalinisation des urines et l'existence de lésions associées.

LA CHLOROMYCÉTINE ET L'AURÉOMYCINE

Ces deux antibiotiques ont un double avantage sur la Streptomycine : ils sont actifs per os et provoquent rarement une résistance.

En résumé, la colibacillose primitive ou pure, réalise deux types d'infection : l'une locale, la pyélonéphrite ; l'autre générale, la septémie.

On insiste actuellement de plus en plus sur les néphrites interstitielles ou interstitielles. Elles représentent 10 à 12 % des néphrites chroniques. Pour toutes, il y a dans les antécédents une pyélonéphrite qui peut être de la première enfance, gravidique ou encore une de ces infections qui compliquent les états urinaires du vieillard. Dans de nombreux cas, qu'il s'agisse d'enfants ou d'adultes, l'infection a été favorisée par une malformation congénitale dont l'urographie plus systématique nous révèle actuellement la fréquence. Abandonnées à elles-mêmes, ces infections urinaires entraînent l'insuffisance rénale et l'hypertension. Si l'on agit assez tôt pour supprimer sur place l'infection du rein, on stabilise la néphrite et on la voit rétroceder.

Il y a une dizaine d'années, l'acidité des urines était la seule mesure envisagée : elle était d'ailleurs utile et souvent efficace. Nous avons maintenant à notre disposition toute une gamme d'antibiotiques. Lequel d'entre eux faut-il utiliser ? La première mesure doit être l'isolement du germe et la recherche à *in vitro* de l'antibiotique auquel il est sensible. Grâce à ces précautions, on obtiendra un succès durable et définitif dans la moitié des cas environ. Actuellement la Furadoline est très en vogue dans la chimiothérapie urinaire.

Pour de plus amples renseignements nous renvoyons à l'intéressant travail de MASCHAS (17). En conclusion, nous pouvons dire que, malgré l'apogée de cet auteur en ce qui concerne l'efficacité des médicaments modernes vis-à-vis des infections à Colibacilles, ce problème thérapeutique est loin d'être résolu : c'est pourquoi nous l'avons envisagé sur une autre base.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE III

Nous tenons à donner un aperçu général de la plupart des substrats nutritifs employés pour l'isolement et le diagnostic des *Escherichia*. Ceci nous permettra par la suite de référer à ce chapitre et nous évitera d'alourdir le texte concernant nos recherches personnelles. Pour de plus amples détails concernant la préparation et la valeur nutritive de ces milieux, nous renvoyons à la monographie de J.-G. MARCHAL (26) dans le « Monde des microbes ».

MILIEUX DE CULTURE UTILISÉS POUR CARACTÉRISER LA FLORE INTESTINALE

Les milieux employés généralement pour l'isolement et la caractérisation des *Entérobactéries* peuvent être divisés en deux grands groupes :

A) *Les milieux généraux*, utilisés pour la plupart des bactéries, tels que bouillon de viande, eau peptonée, milieux gélatinés ou gélosés. Sur ces substrats les *Entérobactéries* végètent abondamment et d'une façon luxuriante.

B) *Les milieux spécifiques* adaptés spécialement aux *Entérobactéries*.

Tous ont pour but l'isolement des germes à partir d'une culture mixte où les autres bactéries ont été raréfiées.

Nous n'insisterons pas sur le premier groupe de milieux dont l'emploi est courant en microbiologie.

Quant aux *milieux spécifiques*, nous les classerons en quatre catégories qui sont les suivantes :

1. *Milieux à base d'hydrate de carbone ;*
2. *Milieux adaptés à l'étude du pouvoir réducteur des Entérobactéries ;*
3. *Milieux à base d'antiseptiques ;*
4. *Milieux à base de métaux ayant une influence spécifique sur les germes.*

1. Milieux à base d'hydrate de carbone

Les milieux employés pour l'étude des propriétés biochimiques des *Entérobactéries* contiennent d'habitude soit du glucose, soit du lactose. Ces deux glucides sont utilisés pour les raisons suivantes : les *Escherichia* et *Klebsellia* attaquent seuls le lactose, alors que les autres bactéries du groupe T. P. E. (*Typhique* - *Paratyphique* - *Entérobactéries banales*) n'utilisent en général pas directement ce sucre.

Les principaux milieux de ce genre, couramment employés en bactériologie sont : le milieu d'Endo ou la modification proposée par Marchal, le milieu de Drigalski-Conradi, le milieu de Chandelier, le milieu de Gonzalès et de nombreux autres substrats présentant des modifications plus ou moins importantes.

Nous donnons ci-dessous les techniques de préparation de ces principaux milieux, en insistant sur le mode opératoire, les principes d'utilisation et les critiques que l'on peut éventuellement formuler à leur égard.

Milieu d'Endo modifié par Marchal

1.	Peptone de Witte	20 g
	Gélose	30 g
	Eau	1 000 ml

Ajuster à pH = 7,6 ; chauffer à ébullition et filtrer.

2. Solution alcoolique de fuchsine basique :

Fuchsine basique	0,2 g
Alcool à 95°	10 ml

3. Solution aqueuse de sulfite de soude à 10 %.

4. Solution aqueuse de lactose à 10 %.

Mélanger à chaud après liquéfaction.

Gélose peptonée	300 ml
Solution alcoolique de fuchsine	3 ml
Solution de lactose	30 ml

Agiter et porter le tout à environ 90 à 95 °C. Dès que cette température est atteinte, ajouter par petites portions et en agitant une solution aqueuse de sulfite de soude, jusqu'à décoloration de la gélose fuchsinée.

Répartir en tubes à raison de 10 à 15 ml ; tyndalliser trois jours de suite à 100° pendant quarante-cinq minutes, puis laisser solidifier en culot. Ce milieu se conserve de façon satisfaisante à l'obscurité. Pour l'emploi on le liquéfie au bain-marie et on le transvase dans des boîtes de Pétri stériles.

Sur ce milieu, *Escherichia coli* donne des colonies rouges, à aspect métallique, par suite d'une réaction acide due à la fermentation du lactose. Le leucodérivé de la fuchsine bisulfitée est oxydé et redevient rouge. Les bacilles du groupe T. P. E. donnent en général des colonies incolores dans les premières heures de la culture ; plus tard, ces colonies peuvent prendre un aspect légèrement rosé.

LE MINOR (27) recommande, à la place du milieu de Marchal, les deux substrats suivants, pour établir le diagnostic microbiologique des *Entérobactéries* — eau peptonée à pH 7,4 additionnée d'un indicateur de pH, par exemple 12 ml pour mille de la solution suivante :

Bleu de bromothymol	1 g
NaOH N/10	25 ml
Eau distillée	475 ml

Ajouter les substances fermentescibles pour obtenir une concentration finale de 0,5 %.

Les disaccharides (lactose, saccharose) doivent être stérilisés par filtration.

En pratique, il est plus simple de stériliser par filtration les milieux contenant l'indicateur de pH et les diverses substances qui leur ont été ajoutées.

Milieu de Stern à la glycérine

a) Extrait Liebig	10 g
Peptone	20 g
Eau	1 000 cm ³

b) Solution alcoolique saturée de fuchsine ;

c) Solution aqueuse fraîche à 10 % de sulfite anhydre de sodium. Milieu définitif :

a)	100 ml
b)	0,2 ml
c)	1,66 ml
Glycérine	1,00 g

Ce milieu doit être conservé à + 4°. Après ensemencement, l'incubation se fait à 37°.

La fermentation du glycérol provoque un virage au violet du milieu, qui reste rose pâle dans le cas contraire.

Milieu de Drigalski-Conradi

1. Extrait de viande Liebig	10 g
Peptone de Witte	10 g
Nutrose	10 g
Chlorure de Sodium	5 g
Eau	1 000 ml

On fait bouillir pour solubiliser et alcaliniser à pH = 7,8, puis on ajoute :

Gélose	30 g
--------------	------

Après dissolution à l'autoclave, on filtre.

2. Solution de lactose :

Lactose	30 g
Teinture de Tournesol	300 ml

On porte à ébullition pendant quinze minutes.

3. Solution de soude :

Lessive de soude	10 g
Eau distillée	100 ml

On stérilise à l'autoclave.

4. Solution de Cristal-violet :

Cristal-violet	0,10 g
Eau distillée	100 ml

On dissout à chaud.

On mélange le bouillon peptoné gélosé après liquéfaction avec la teinture de Tournesol lactosée, puis agiter pour obtenir la formation de mousse et ajouter la solution de soude jusqu'à obtention d'une teinte légèrement bleue de la mousse, puis verser encore 4 ml de la solution de soude. Après agitation pour bien mélanger, on apporte finalement la solution de Cristal-violet à raison de 20 ml, que l'on répartit en tubes à raison de 10 à 15 ml, on laisse enfin solidifier en culot. Il faut conserver les milieux à l'obscurité.

Au moment de l'emploi, on liquéfie les milieux et on les transvase dans des boîtes de Pétri stériles.

Sur ce milieu, le *Bacille typhique* et les *paratyphiques* donnent des colonies rondes ressemblant à des gouttes de rosée, incolores ou légèrement bleuâtres. *Escherichia coli* et *Klebsiella* donnent des colonies rouges par suite de la dégradation du lactose et de la production d'acides.

Milieu de Chandelier

On prépare un bouillon gélosé à 30 g pour mille et après addition de 15 g de lactose, on chauffe à l'autoclave jusqu'à dissolution. D'autre part, on prépare une solution aqueuse stérile de Rouge Congo à 10 %. Pour obtenir le milieu définitif, on additionne cette solution au bouillon gélosé lactosé à 10 %.

Escherichia coli et *Klebsiella* donnent sur ce milieu des colonies d'un bleu noirâtre, alors que les *germes typhiques* et *paratyphiques* pathogènes donnent des colonies rouge foncé, comme la plupart des *Entérobactéries anodines* n'attaquant pas le lactose.

LE MINOR (27) recommande dans cette catégorie de substrats :

Milieu lactosé au bromo-crésol pourpre

Peptone Vaillant	20 g
Gélose	20 g
Eau distillée	1 000 cm ³

On ajuste à pH = 7,3 et on précipite à 12° pendant trente minutes, puis filtrer et ajouter :

Lactose	10 g
Bromo-crésol pourpre	0,025 g

Après répartition, le milieu est stérilisé trente minutes à 110°.

Les colonies lactose + : sont jaunes ; les colonies lactose — : bleues. Ce milieu n'est pas sélectif, ne contenant pas d'inhibiteur spécifique.

Parmi tous ces milieux à base d'hydrate de carbone, nous avons donné la préférence au *substrat d'Endo-Marchal* sur lequel on obtient des teintes bien opposées, permettant de différencier et d'isoler les bacilles des groupes *Escherichia-Klebsiella des germes pathogènes vrais*, dont la présence est anormale dans le tube digestif sain. C'est aussi pour cette raison que ce milieu est préféré par la plupart des laboratoires.

Cependant, toutes ces méthodes, se référant uniquement au pouvoir fermentatif du glucose et du lactose, ne permettent pas un diagnostic sûr, c'est pourquoi d'autres techniques ont été élaborées que nous allons brièvement énumérer.

2. Milieux basés sur le pouvoir réducteur des Entérobactéries

Depuis les travaux de GRIMBERT (28), on divise les bactéries aptes à réduire les *nitrites* en deux catégories :

- Les ferments dénitrifiants vrais ;
- Les ferments dénitrifiants indirects.

Les ferments dénitrifiants indirects dont font partie les *Escherichia* sont capables de dégrader les nitrates à condition de trouver dans le substrat des complexes protidiques spéciaux, en particulier des complexes amidés. sur lesquels, selon GRIMBERT, agirait l'acide nitreux résultant de la réduction du nitrate par la bactérie. Dans ces conditions, le volume de gaz dégagé par l'action microbienne est au moins double de celui qui correspond au poids de l'azote du nitrate décomposé. Par contre, chez les ferments dénitrifiants vrais, tel que le *Bacille pyocyanique*, le volume d'azote libéré correspond exactement au poids du nitrate décomposé et les produits amidés présents dans le substrat n'interviennent pas dans la réaction.

On voit donc que, en ce qui concerne les ferments dénitrifiants indirects, on a affaire à une réaction semblable à celle que l'on utilise couramment en chimie biologique pour le dosage de l'azote amidé par la méthode de YOVANOWITCH (29).

Les milieux de culture employés pour mettre en évidence cette propriété contiennent, soit du nitrate de potassium, soit du nitrate de sodium, avec addition de peptone. GRIMBERT avait constaté des variations suivant que l'on utilisait de la peptone ou de l'extrait de viande.

Pour vérifier l'exactitude de cette manière de voir, nous avons effectué des expériences à l'aide de milieux de culture contenant, les uns de la peptone, les autres de l'extrait de viande et d'autres encore des produits aminés synthétiques, tels que l'acide ascorbique, l'asparagine et la lysine, renfermant donc la fonction amide, soit seule, soit associée à un groupement d'azote d'une autre fonction présente dans la molécule.

Lors de ces recherches, nous n'avons pas pu constater de différences marquées entre *Escherichia coli*, les *Eberthella* et *Salmonella* quant au pouvoir

dénitrifiant. D'ailleurs, il ne faut pas oublier que la peptone contient également des groupements amidés.

L'action dénitrifiante des *Entérobactéries* ne peut donc pas servir de test de différenciation.

Une autre réaction est basée sur les propriétés réductrices du Rouge neutre. Il s'agit du Chlorhydrate de diméthyl-diamido-toluphénazine-asymétrique, qui, sous l'action des alcalis, perd sa coloration rouge pour prendre une teinte jaune. Ce mélange traité par l'alcool ou l'éther est doué d'une fluorescence verte. On prépare un bouillon peptoné auquel on ajoute 5 g de glucose par litre et on introduit le Rouge neutre à raison de 0,5 g pour mille. On stérilise à 115 °C pendant trente minutes. On obtient ainsi un bouillon nettement coloré en rouge. Les *Escherichia* ensemencés sur ce milieu se développent d'une façon luxuriante et dès les premières vingt-quatre heures, on aperçoit un virage de la teinte rouge au jaune et une fluorescence verte très caractéristique.

Ces caractères sont identiques pour presque tous les germes du groupe T. P. E., à condition d'utiliser un milieu à base de glucose. Par contre, l'introduction de lactose à la place de glucose permet une différenciation entre les bactéries typhiques, paratyphiques et les *Entérobactéries non pathogènes*.

A cette technique on peut opposer la critique suivante : le diagnostic des *Escherichia* au moyen d'un milieu au Rouge neutre lactosé est plutôt problématique, étant donné qu'un nombre important d'autres bactéries ont la même propriété réductrice. D'autre part, le virage du Rouge neutre vers une teinte jaune s'effectue sous l'action des alcalis, alors que dans notre milieu glucosé ou lactosé les *Escherichia* produisent une réaction acide. Il faut donc se demander si, le phénomène réactionnel est tributaire de la concentration ionique.

Nous voyons ainsi que ces problèmes sont loin d'être résolus et que ces techniques ne permettent pas un diagnostic différentiel sûr.

C'est pour cette raison que LE MINOR a proposé le :

Milieu Gélosé Eosine-Bleu de méthylène

Formule :

Peptone tryptique	10	g
Lactose	5	g
Saccharose	5	g
Phosphate bipotassique	2	g
Gélose	20	g
Eosine jaune	0,4	g
Bleu de Méthylène	0,065	g
Eau distillée	1 000	ml
pH = 2,7		

Ce milieu ne contient pas d'antiseptique sélectif. Il est particulièrement recommandé pour les cultures d'*Entérobactéries* dans les urines. Les colonies d'*Escherichia* sont d'une couleur violet très foncé avec un reflet métal-

lique (dos de scarabée). Leur diamètre est de 2 à 3 mm. Les colonies de *Klebsiella* et de *Cloaca* sont plus grosses (diamètre 6 mm environ), rosées, muqueuses, convexes. Le centre peut avoir un reflet métallique. Les colonies lactose — sont bleutées.

3. Milieux à base d'antiseptiques

On sait, comme QUIRIN (30) l'a fait remarquer, que la vitalité des bactéries est fortement influencée par *certaines antiseptiques*. La dose d'antiseptique varie dans de larges limites suivant que l'on désire simplement arrêter ou ralentir le développement d'un germe déterminé, ou bien que l'on cherche à le détruire. Elle varie aussi suivant le milieu employé et suivant la température.

A ce sujet, S. LAMBIN (31) a parfaitement mis en valeur l'influence germicide exercée sur les bactéries par la substance désinfectante. Cette activité est conditionnée par la qualité et la quantité des germes en expérience, la composition du substrat, la température, le temps d'action du désinfectant et ses propriétés antigénétiques.

L'auteur a fixé pour trois antiseptiques (*le bichlorure de mercure, le phénol et l'iode*) une technique particulière pour la détermination de leur valeur antibiotique. LAMBIN a ajouté à ces milieux du taurocholate ou du glycholate de soude ou encore de la bile même, dans le but d'arrêter le développement de certains germes tout en favorisant la croissance des *Entérobactéries*.

On a utilisé dans le même but, c'est-à-dire pour séparer *le Colibacille* des autres germes, des composés tels que l'Acide arsénieux, la Caféine seule ou additionnée de Cristal-violet.

L'Acide phénique ajouté à la dose de 1 g par litre de bouillon et en opérant la culture à la température de 40-41 °C est un excellent moyen d'isolement *du Colibacille* à partir de l'eau et des liquides physiologiques. En France, pour cultiver, identifier et compter *les Escherichia coli* dans l'eau, on se sert généralement de la méthode de VINCENT, basée sur la propriété de ce germe de se développer dans une eau peptonée, légèrement phéniquée et à la température de 42 °C. L'Acide phénique et cette température créent des conditions dysgénésiques pour de nombreux germes banaux.

CHANTEMESSE a proposé le milieu suivant :

Peptone pancréatique	3 g
Lactose	2 g
Gélose	2 g
Eau distillée	100 ml

On chauffe pour dissoudre la gélose, on alcalinise à pH = 7,6, puis on précipite les phosphates alcalino-terreux par un nouveau chauffage. Après filtration et répartition dans les tubes à raison de 10 ml, on stérilise. Au moment de l'emploi, le milieu est liquéfié et on ajoute dans chaque tube la solution aqueuse à 3 % d'acide phénique cristallisable à raison de quatre gouttes et 1ml de Teinture de Tournesol stérile.

Ce milieu convient surtout à l'isolement de *Escherichia coli* ; la bactérie y pousse en colonies rouges, tandis que les *Eberthella* et *Salmonella* s'y développent en colonies incolores ou blanchâtres, comme la plupart des autres bactéries n'attaquant pas le lactose et insensibles à l'action de l'acide phénique.

Les objections que l'on peut formuler à l'égard du milieu proposé par CHANTEMESSE sont les mêmes que celles que nous avons relevées au sujet des milieux à base d'hydrates de carbone. En outre, il n'est pas impossible que la température de 42 °C pour effectuer les cultures ait une action inhibitrice, si faible soit-elle, s'ajoutant à l'action de l'antiseptique. Enfin et surtout, l'acide phénique a un pouvoir inhibiteur incontestable, il n'est donc pas impossible que dans les milieux phéniqués les *Escherichia* restent, au moins dans certains cas, bactériologiquement en sommeil inerte et échappent ainsi au diagnostic. Transportés dans un milieu plus favorable, par exemple dans l'intestin, ces germes retrouveront leur vitalité et leurs propriétés biochimiques et antigéniques. C'est ainsi qu'une analyse d'eau peut conclure à l'absence de *Colibacilles* alors qu'en réalité elle en contient. DIENERT et ETRILLART (32), exposent les causes d'erreurs de la méthode de VINCENT, ils vont même jusqu'à écrire qu'avec cette méthode ils ont maintes fois obtenu des résultats négatifs pour le *Colibacille* avec des eaux manifestement contaminées. Après l'étude de nombreux milieux, ces auteurs se sont arrêtés à celui de TEAGUE, 1946 (33), qui est préparé de la façon suivante :

Peptone	10 g
Phosphate bipotassique	2 g
Gélose	15 g
Eau distillée	1 000 ml

On chauffe pour dissoudre, ajuste à pH = 7,5 et précipite les phosphates alcalino-terreux. On filtre et après répartition en tubes, on stérilise.

Au moment de l'emploi, il faut ajouter à 10 ml de cette gélose :

Solution de lactose à 20 %	0,5 ml
Solution d'éosine à 2 %	0,2 ml
Solution de Bleu de méthylène à 0,5 %	0,2 ml

Après mélange soigneux, le milieu est coulé en boîtes de Pétri stériles. Dans ces conditions les *Colibacilles* donnent des colonies d'un bleu sombre, presque noires. Les colonies appartenant au groupe *alcaligènes* sont plus larges et ont une teinte brun foncé. Les *Eberthella* apparaissent sous forme de colonies rouge vif si elles sont de type S, alors que le type R donne des colonies bleu clair, faciles à différencier de celles des *Escherichia*.

Dans cette catégorie de milieux, on trouve encore celui proposé par KRISTENSEN, 1946 (34), qui est un substrat gélosé préparé comme suit :

1. Bouillon de viande	100 ml
Gélose	2,5 g
2. Solution stérile de lactose à 30 %	5,0 ml
3. Solution au Rouge au phénol à 0,2 % ...	4,0 ml
4. Solution de vert brillant à 0,5 %	0,3 ml

On mélange les quatre réactifs au moment de l'emploi. Le milieu prend une teinte brun verdâtre.

La solution de rouge de phénol est préparée de la façon suivante :

Rouge de phénol	2 g
Soude décinormale	8 g
Eau distillée q. s. p.	100 ml

Nous avons préféré le milieu solide de KRISTENSEN au milieu liquide de KAUFMANN (35) au tétrathionate de soude et au vert brillant actuellement préconisé par les auteurs américains.

Ce milieu présente l'avantage de permettre la séparation facile des *Paracoli* et des *Colibacilles* vivaces ainsi que des autres bactéries saprophytes et celles du groupe *Salmonella*. Dans cette gélose, le *Colibacille* donne des colonies vertes adhérant fortement au milieu. Les *Bacilles typhiques* et *paratyphiques* forment des colonies rouges se détachant facilement du substrat, tandis que les *Paracoli* et les *Colibacilles* à vitalité atténuée ne poussent pas sur ce milieu, car ils sont inhibés par le phénol.

Le MINOR (27) a également recommandé le milieu combiné lactose-glucose-hyposulfite.

Milieu combiné lactose-glucose-hyposulfite

Peptone trypsique de fibrine	20 g
NaCl	5 g
Lactose	10 g
Glucose	1 g
Hyposulfite de soude	0,2 g
Sulfate de fer ammoniacal	0,2 g
Rouge de phénol à 1 %	2,5 ml
Gélose	13 g
Eau	1 000 ml

Ce milieu doit être conservé en culot. Pour l'utilisation on le liquéfie au bain-marie bouillant où on le maintient une dizaine de minutes, puis on le laisse solidifier en position inclinée de manière à avoir un culot de 2 cm de haut environ. Il est important de n'utiliser que des tubes récemment inclinés car les réactions observées sont moins nettes sur les milieux inclinés depuis longtemps.

Le culot est ensemencé par piqûre, la surface en stries serrées de manière à avoir une culture abondante.

Les tubes ne doivent pas être capuchonnés pendant l'incubation. La lecture se fait dix-huit à vingt-quatre heures après l'ensemencement. Les bactéries ne fermentant le lactose qu'après plusieurs jours paraîtront donc lactose —.

Ce milieu donne cinq réponses :

1. Le culot reste inchangé : le glucose n'est pas fermenté. Il vire au jaune dans le contraire ;
2. S'il y a production de gaz, on peut avoir soit seulement quelques bulles, soit une poche gazeuse qui décolle complètement le milieu du fond du tube ;
3. Si la surface inclinée reste inchangée, le lactose n'est pas fermenté. Elle vire au jaune dans le cas contraire ;

4. La production de SH^2 se traduit par un noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente. Avec des bactéries donnant peu de SH^2 (*S. typh.*), le noircissement reste localisé au niveau de la piqure ;

5. La souche possède ou non une lysine-décarboxylase.

La culture de la pente peut d'autre part servir à l'étude antigénique.

4. Milieux à base de métaux ayant une influence spécifique sur les bactéries du groupe Coli-Typhique

Au cours des recherches pour trouver un milieu spécifique permettant la différenciation entre les germes du groupe T. P. E., on a remarqué que les *Colibacilles libèrent le fer* de ses combinaisons, dans certaines conditions et que cet ion libéré agit ensuite sur les réactifs ordinairement employés pour caractériser sa présence.

Léon MULLER (36) a ainsi constaté que certains composants du fer contenant ce métal à l'état dissimulé ne donne pas avec les réactifs classiques les réactions caractéristiques. Ceci est particulièrement le cas pour le malate de fer, l'iodure de fer lactosé, le saccharate de fer, etc. ; mais sous l'action de certains facteurs l'ion métallique peut être libéré et sa présence peut alors être mise en évidence par les réactions classiques du fer. L'auteur a ainsi établi un milieu spécifique pour caractériser le développement des *Escherichia* qui, par leur activité, mettent justement en liberté le fer contenu dans du malate de fer introduit dans le milieu. La composition de ce milieu est la suivante :

Milieu de Muller

Extrait de fer pommé au 1/10	30 ml
Ferrocyanure de potassium au 1/10	40 ml
Lactose	25 g
Bouillon de viande	1 000 ml

On alcalinise au moyen de 10 pour mille de NaOH.

Sur ce milieu les *Colibacilles* donnent un liquide trouble à reflets bleuâtres et un dépôt bleu foncé.

Par l'emploi d'une gélose alcalinisée à 10 % au lieu de bouillon, les *Colibacilles* colorent le milieu en vert, tandis que les bactéries des groupes *Eberthella-Salmonella* pathogènes donnent un voile blanchâtre. Grâce à ces milieux de culture, l'auteur a pu déceler les *Colibacilles* dans des cas où d'autres méthodes avaient échoué.

Cette technique est donc très recommandable pour différencier le *Colibacille* : cependant, les *Entérobactéries* pathogènes ne se distinguent nullement de la plupart des germes anodins fréquemment présents dans les liquides souillés et les selles.

Nous tenons à rapporter ici un fait qui, à notre connaissance, n'a pas donné lieu jusqu'ici à une étude approfondie. L'emploi d'un milieu végétal

à base d'artichaut est parfois utilisé en France pour le diagnostic du *Colibacille*. En effet, au bout de vingt-quatre heures, il apparaît sur l'artichaut une coloration verte due au développement du *Colibacille* qui envahit toute la partie charnue de la plante. Cette coloration est due à la mise en liberté du fer contenu sous une forme dissimulée et en combinaison spéciale dans ce végétal.

En se basant sur l'action du *Colibacille* sur certains sels de plomb, DIENERT, GUILLERD et LEGUEN (37) ont montré comment on pouvait utiliser la gélose additionnée de sous-acétate de plomb pour caractériser le *Bacille d'Eberth* et le *Bacille paratyphique B*. Un mélange de *Colibacille* et de *Bacille d'Eberth* dans une eau se distingue très facilement sur la gélose au plomb : le premier donnant des colonies incolores alors que le second se développe en colonies noires.

La recherche des colonies noircissant la gélose au plomb se fait en utilisant le milieu suivant :

Milieu gélosé au plomb

Gélose	15 g
Peptone	30 g
Eau ordinaire	1 000 ml

Après avoir ajusté le pH à 7,5, on ajoute au moment de l'emploi 10 ml d'une solution à 10 % de sous-acétate de plomb du *Codex*.

En présence de certaines bactéries du groupe T. P. E., on note l'apparition d'une coloration noire du milieu, due à la formation de sulfure de plomb. Il s'agit en l'occurrence d'un procédé de réduction par mise en liberté d'hydrogène sulfuré et action de ce composé sur le sel de plomb introduit dans le milieu.

Etant donné les conclusions souvent contradictoires des divers auteurs en ce qui concerne l'apparition de ce phénomène en présence de *Colibacille*, QUIRIN (30) en a fait une très intéressante étude et a signalé l'instabilité de ce caractère.

En considérant la formule de préparation de ce milieu de plomb, formule empruntée à CALMETTE, BOUQUET et NEGRE (38) et que l'on emploie couramment dans les laboratoires de microbiologie, on est frappé par le fait qu'elle ne renferme qu'un seul corps entrant en réaction, le sel de plomb, toute trace d'ion nettement défini étant absente. Cet élément est représenté uniquement par les traces qui sont contenues dans l'eau ou dans les autres produits nutritifs introduits dans le milieu de culture. On conçoit facilement que ce taux de soufre est par conséquent très variable et peut exister sous des combinaisons chimiques tout à fait différentes. On peut alors se demander si les résultats négatifs obtenus dans certains cas ne tiennent pas précisément à l'absence totale, à la présence d'une quantité trop faible ou à une combinaison chimique inattaquable de l'élément soufre dans les milieux mis en expérience.

QUIRIN (30) s'est demandé sous quelle forme chimique se trouvait engagé le métalloïde présent dans le substrat, pour être dissocié ou non par *Escherichia coli* et aboutir ou non à la formation de sulfure de plomb.

La présence d'éléments acides ou basiques en voie de dissociation et mis en liberté dans le milieu de culture sous l'action du *Colibacille* ou d'un autre germe de ce groupe est peut être un obstacle à l'apparition de l'Hydrogène sulfuré.

C'est pour cette raison que J. MEYER et ses élèves et en particulier LE CLECH (39) ont entrepris des recherches pour étayer cette interprétation.

*Milieu synthétique au soufre pour la différenciation culturale
du Colibacille, du Bacille d'Eberth, des Bacilles paratyphiques A et B*

Les expériences de J. MEYER, LE CLECH et LÉVÊQUE (40) ont permis d'établir la formule de deux milieux spécifiques qui ont donné finalement les meilleurs résultats dans l'étude de la réaction au plomb, permettant ainsi de différencier par les méthodes culturales les quatre bactéries qui, au point de vue biologique et pathologique, nous intéressent le plus.

*Milieu au sous-acétate de plomb
à base d'hyposulfite de soude (milieu H)*

On fait dissoudre dans un ballon :

Chlorure de Calcium	0,40 g
Phosphate acide de potasse	2,50 g
Sulfate ferreux	0,10 g
Asparagine	4 g
Glycérine	25 g
Hyposulfite de soude pur	10 g
Eau distillée	1 000 ml
On ajuste à pH = 7,4, puis ajouter :	
Gélose lavée et gonflée	30 g

Après dissolution de la gélose et filtration à chaud, on répartit en tubes et stérilise à 115 °C. Au moment de l'emploi, il faut ajouter 5 ml de solution de sous-acétate de plomb à 10 %, préalablement stérilisée.

Milieu au sous-acétate de plomb à base de cystine (milieu C)

On fait dissoudre dans un ballon :

Chlorure de Calcium	0,40 g
Phosphate acide de potasse	2 50 g
Sulfate ferreux	0,10 g
Asparagine	4 g
Glycérine	25 g
l-Cystine	1 g
Eau distillée	1 000 ml

Après avoir ajusté à $\text{PH} = 7,8$ et ajouté :

Gélose lavée et gonflée 30 g

on chauffe pour dissoudre la gélose et filtre à chaud, puis on répartit et stérilise à 115°C pendant vingt minutes. Enfin, 5 ml d'une solution à 10 % de sous-acétate de plomb stérile sont ajoutés à chaque tube.

Les examens sont effectués au moyen d'une souche de *Colibacilles*, de *Bacilles typhique* et *paratyphique*.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

TABLEAU N° 1

Bactéries	Réactions sur milieu	
	H	C
Colibacille	0	+
Bacille typhique	+	0
Paratyphique A	0	0
Paratyphique B	+	+

Dans ces conditions on constate que, sous l'action microbienne sur le sous-acétate de plomb, la production de sulfure de plomb dans les milieux contenant du soufre, à l'état d'*hyposulfite* ou de *l-cystine*, permet d'établir un diagnostic différentiel entre les quatre bactéries du groupe T. P. E. Nous insistons sur la nécessité de l'emploi des deux milieux synthétiques.

Comme nous l'avons antérieurement mentionné, LE MINOR (27) propose le :

Milieu gélosé de Drigalski

Lactose 15 g
 Hyposulfite de Sodium 1 g
 Solution aqueuse de cristal-violet à 1 ‰ 5 ml
 Solution au bleu de bromothymol à 1/500 .. 40 ml
 Bouillon gélosé à 2,5 ‰ 1 000 ml

Sur ce milieu contenant du cristal-violet qui inhibe la croissance de la plupart des bactéries Gram + et laisse croître toutes les *Entérobactéries* « les colonies lactose + sont jaunes, les colonies lactose — sont bleues ».

Ce milieu pouvant être envahi par le *Proteus*, il est possible d'empêcher cet envahissement en versant dans le couvercle quelques gouttes d'alcool : les vapeurs d'alcool empêcheront pendant vingt-quatre heures environ les *Proteus* de cultiver en nappe. Ces vapeurs agissent sur l'antigène H et entravent ainsi la mobilité des bactéries.

Cette gélose, contenant de l'hyposulfite de Sodium, mais dépourvue de plomb, constitue un substrat beaucoup moins spécifique pour le diagnostic et l'isolement des *Escherichia*.

DUMAS (13) identifie les cultures d'*Escherichia coli* en les cultivant sur deux milieux que nous tenons encore à citer :

1. Le milieu sélectif T. T. C. (Chapman 1951)

Il est basé sur le fait que les *Escherichia coli* et les *Coliformes* ne réduisent pas le chlorure 2, 3, 5-triphényl-tétrazolium et que leurs colonies sont jaune plus ou moins foncé et entourées d'un halo jaune. Au contraire, les colonies des *Entérobactéries lactose* — réduisent le T. T. C. et sont teintées en violet et entourées d'un halo bleu.

Formule du milieu :

Protéose peptone	5 g
Extrait de Levure	3 g
Lactose	10 g
Bleu de bromothymol en solution au 1/100	5 ml

Après avoir ajusté à $\text{PH} = 6,9$, on répartit 20 ml par tube et stérilise à 115°C . Au moment de l'emploi, on fait fondre la gélose au bain-marie bouillant et on ajoute : 1 ml de solution de chlorure 2, 3, 5-triphényl-tétrazolium à 0,050 g % dans l'eau distillée stérile, 1 ml de Tergitol 7 à 0,2 g % dans l'eau distillée stérile (Diéthyl-tridécanol).

Les colonies d'*Escherichia* sont rondes, de couleur jaune à centre orangé et elles sont entourées d'un halo jaune.

Les colonies de *Coliformes* sont jaunes.

Les colonies des *Aerobacter* se reconnaissent facilement parce qu'elles sont épaisses et muqueuses, elles présentent un centre orange et sont entourées d'un halo jaune.

Par contre, les colonies de *Paracoli* sont de teinte violette et entourées d'un halo bleu, puis jaune après quarante-huit heures.

Enfin, les colonies de *Salmonella* et de *B. Proteus* sont de teinte violette et entourées d'un halo bleu.

2. Le milieu au cyanure de potassium (Braun, Unat et Dlibeyoglu)

On prépare un milieu de base contenant :

Peptone blanche (petone tryptique)	10	g
NaCl	5	g
Na_2HPO_4	5,637	g
KH_2PO_4	0,226	g
Agar	20	g
Eau distillée	1 000	ml

On amène à $\text{pH } 7,4$ à $7,6$ et répartit à raison de 2 ml de gélose fondue dans des tubes de 80×10 mm que l'on stérilise à 120°C et que l'on capuchonne. Au moment de l'emploi, on ajoute dans ces tubes, 0,1 ml de :

Cyanure de potassium	0,5	g
Eau distillée	100	ml

Dans un tube laissé au bain-marie à 45 °C, on mélange 3 oeses (boucle de 6 mm de diamètre) d'une culture de vingt-quatre heures en eau peptonée du germe à étudier. Après vingt-quatre heures d'étuve à 37 °C, les germes qui se développent en présence du Cyanure de potassium forment à la surface du milieu un anneau blanc très visible. Dans ce milieu, *les Escherichia coli* ne se développent pas, tandis que *les Aerobacter* se multiplient en formant un anneau blanc.

Nous avons ainsi exposé l'ensemble des procédés utilisés actuellement en Europe pour isoler et caractériser biochimiquement les bactéries, morphologiquement si semblables, des groupes *Escherichia*, *Eberthella*, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella* et *Aerobacter*.

CHAPITRE IV

PROPRIÉTÉS SÉROLOGIQUES ET LYSOGÉNIQUES DES *ESCHERICHIA COLI*

On sait que durant ces dernières années la caractérisation des *Escherichia coli* a avancé du fait des progrès récents réalisés dans l'étude du pouvoir antigénique d'une part et de la lysogénie d'autre part.

La constitution antigénique des *Escherichia coli* a évolué à la suite des recherches de F. KAUFMANN (41) et de son école. On s'accorde maintenant à reconnaître à *Escherichia coli* et à tous les groupes de Coliformes, une structure antigénique fort complexe. En plus des Antigènes O et H classiques, il faut admettre l'existence d'un groupe d'Antigène K comprenant les Antigènes L, A et B. En outre, SZABO (42) a remarqué l'influence des éléments nutritifs d'un milieu sur les propriétés antigéniques d'*Escherichia coli*. L'addition de différents glucides (mannite, amidon, glycérine, xylose) dans un milieu synthétique détermine l'apparition de types sérologiques différents. Ce fait, peut expliquer les résultats que nous avons obtenus au cours de nos travaux personnels.

A) ANTIGÈNE « O »

L'antigène O d'*Escherichia coli*, comme celui des autres *Entérobactéries* est un antigène somatique, thermostable. Il résiste à la chaleur de 100 °C à l'alcool et au phénol ; le formol inhibe l'agglutination O. Un grand nombre d'*Escherichia coli* sont inagglutinables parce que l'Antigène O est masqué par l'Antigène K contenant deux Antigènes de surface L—B et un Antigène capsulaire A. Pour tester l'Antigène O, on le rend agglutinable en détruisant les Antigènes L et B par chauffage de l'émulsion vivante à 100 °C et l'Antigène A en chauffant pendant deux heures à 120 °C. KAUFMANN a identifié vingt-cinq groupes principaux d'Antigène O ; on en décrit maintenant beaucoup d'autres. WRAMBY (43), qui s'est occupé surtout des *Escherichia coli* des septicémies et des diarrhées des veaux, a étudié tout un ensemble de types sérologiques qu'il a désigné par des chiffres et des lettres, 36 w, 38 w etc. Certains de ces types sont analogues à ceux décrits antérieurement par KAUFMANN.

B) ANTIGÈNE « H »

C'est l'Antigène flagellaire des *Escherichia coli mobiles*. Il est détruit par la chaleur à 100 °C, par l'alcool et par les ferments protéolytiques ; il résiste au formol. Sa constitution chimique est de nature protéidique. L'antigène H est toujours peu abondant. Pour le mettre en évidence et l'étudier, il faut exalter la mobilité du germe en le cultivant sur gélose molle, en ensemençant le liquide de condensation rassemblé à la partie inférieure d'un tube incliné et en sélectionnant les colonies qui sont apparues en haut de la pente et qui sont dues à des germes très mobiles.

C) ANTIGÈNE « K »

Le groupe des Antigènes K comprend trois variétés : deux antigènes de surface L et B et un antigène capsulaire vrai A.

1. Antigène L

Cet Antigène somatique de surface masque l'agglutination O des microbes vivants. Il est thermolabile et détruit par chauffage de 1 h à 100 °C. Un sérum anti-O, préparé avec des microbes bouillis est sans action sur les bactéries vivantes, mais ce sérum agglutine la suspension préalablement chauffée pendant une heure et demie à 100 °C. On peut préparer avec des germes OL vivants, un sérum qui agglutine les *Escherichia*.

L'Antigène L possède d'autres propriétés, il est très souvent hémolytique, très toxique pour la souris, assez souvent nécrotique pour le lapin et pathogène pour l'homme. Sa structure est inconnue.

VARIÉTÉS DE COLONIES « L MINUS »

KAUFMANN a constaté un type de colonies d'*Escherichia coli*, dépourvue d'Antigène L et dénommées colonies L minus ressemblant à celles de certaines *Salmonella* qui contiennent ou non l'Antigène Vi.

COLONIES L +

Elles ont un aspect opaque, les microbes qui les constituent sont inagglutinables à l'état vivant par le sérum O. Elles ressemblent aux colonies V des *Salmonella* qui possèdent l'Antigène Vi.

COLONIES L —

Elles sont transparentes. Ces colonies L minus contiennent peu ou pas d'Antigène L et sont agglutinées à l'état vivant par le sérum O. Elles ont le même aspect que celui présenté par les colonies W des *Salmonella*.

RÉPARTITION DE L'ANTIGÈNE L

Cet antigène se trouve dans les *Escherichia coli* de tous les groupes O sauf dans les groupes O 8 et O 9. Actuellement, trente types d'*Escherichia coli* possédant sérologiquement l'Antigène L sont identifiés. KAUFMANN a constaté que le sérum OL provoque un léger gonflement capsulaire avec

épaississement mince du corps bactérien. Cet auteur fait remarquer qu'il est inexact de comparer cet antigène capsulaire à celui du *Pneumocoque* qui détermine un gonflement important de la capsule de cette bactérie.

2. Antigène B

L'Antigène B, comme l'Antigène L, est un antigène somatique de surface, thermolabile qui masque l'agglutination O des microbes vivants. Une suspension de microbes vivants n'est pas agglutinée par le sérum O, mais c'est seulement après chauffage de une heure à 100 °C que l'on obtient leur agglutination. Cependant, le chauffage à 100 °C n'a pas complètement détruit l'Antigène B qui reste agglutinable.

VARIÉTÉ « B MINUS »

Des colonies d'*Escherichia coli* dépourvues d'Antigène B sont dénommées B minus ; elles contiennent les Antigènes O et H. Contrairement aux colonies L — et A —, elles n'ont aucun aspect particulier permettant de les reconnaître.

RÉPARTITION DE L'ANTIGÈNE B

Les *Escherichia coli* contenant l'Antigène B sont très rares puisqu'il n'existe que O 8, 25 B. H 9 et O 8, 25 B. H 19 dans le tableau des antigènes du groupe des *Escherichia coli*. Par contre, sa présence est constante chez les *Escherichia coli* des gastro-entérites infantiles.

3. Antigène A

L'Antigène A n'est pas un antigène d'enveloppe comme B et L, mais un antigène capsulaire qui masque l'agglutination O des microbes vivants. Il est thermostable. Ainsi les microbes vivants, chauffés une heure à 100 °C sont inagglutinables par un sérum O, mais le deviennent après chauffage de deux heures à 120 °C. Ce chauffage à 120 °C ne détruit pas l'Antigène A qui reste agglutinable.

VARIÉTÉ DE COLONIES « A MINUS »

KNIPSCHILDT (44) a constaté l'existence de colonies ayant un aspect particulier qu'il a dénommées « A minus ». Elles sont dépourvues d'Antigène A, mais contiennent des Antigènes O et H. En général, elles se développent à la périphérie des colonies A muqueuses.

Les colonies A + sont blanches, denses, opaques, volumineuses, souvent muqueuses.

Les colonies A — sont plates, moins opaques et non muqueuses.

RÉPARTITION DE L'ANTIGÈNE A

L'Antigène A se rencontre à peu près constamment chez les *Escherichia coli* des groupes O 8 et O 9. VAHLNE, qui a confirmé les travaux de KNIPSCHILDT, a identifié dix variétés d'antigènes sérologiquement différents.

GONFLEMENT CAPSULAIRE

Le sérum anti-A provoque le gonflement de la capsule des *Escherichia coli* qui possède l'Antigène A.

D) ANTIGÈNE « Vi »

KAUFMANN et BACOCKE (45) ont constaté, d'ailleurs exceptionnellement, la présence d'un Antigène Vi, antigène somatique de surface qui masque l'agglutination O. Il est thermostable et détruit par chauffage à 100 °C (KAUFMANN). On n'a pas constaté de variantes de cet antigène comme on l'observe chez les *Salmonella*. Cet antigène a été décelé chez les *Escherichia coli* isolés d'appendicite et d'endocardite (TAKEKA et AKINATA).

E) ANTIGÈNE « M »

La capsule des souches mucoïdes d'*Escherichia coli* contient un antigène M différent de l'Antigène K qui est commun à toutes les souches muqueuses. En plus de cet Antigène M, on peut rencontrer dans des variétés de souches mucoïdes l'Antigène A décrit précédemment. On pense que l'Antigène M est lié à un complexe polysaccharidique de la capsule. DUMAS (13) a décrit la méthode de préparation de ces sérums anti-M.

Méthodes pour l'identification sérologique d'*Escherichia coli*

On identifie une souche en précisant les types d'antigènes O K et H avec des sérums correspondants spécifiques pour la classer dans un groupe sérologique. L'agglutination se fait sur lame, puis elle est vérifiée en tube.

Détermination de l'antigène O

1. RECHERCHE DE L'O AGGLUTINABILITÉ

Il faut déterminer si la souche étudiée contient ou non un Antigène K qui masquerait l'agglutination O par un sérum spécifique O. La réaction se fait avec des microbes vivants et un sérum O pur ou dilué, sur lame, puis en tubes, qui, après deux heures d'étuve, sont laissés vingt heures à la température du laboratoire. Si l'agglutination est positive, la souche n'a pas d'Antigène K et le type d'Antigène O doit être immédiatement déterminé : si elle est négative, O est inagglutinable.

2. O INAGGLUTINABLE

a) On ignore le type d'Antigène K. On chauffe l'émulsion microbienne vivante pendant une heure à ébullition. L'agglutination avec le sérum O spécifique s'effectue comme précédemment. Si l'agglutination est négative,

l'émulsion est chauffée pendant deux heures à 120 °C. On fait agir les sérums O 8 et O 9 spécifiques, car ces groupes sont les seuls porteurs d'Antigène A. Au lieu de chauffer l'émulsion à 120 °C, il est préférable d'isoler une colonie « A minus », qui est O inagglutinable, dont on chauffe l'émulsion à 100 °C.

b) On connaît le type d'Antigène K. S'il s'agit d'une souche O L ou O B, l'émulsion microbienne est bouillie pendant une heure. Si c'est une souche O A, on choisit une colonie « A minus » qui sert à préparer une émulsion qui est bouillie pendant une heure. A défaut d'une colonie « A minus », on chauffe l'émulsion microbienne O A pendant deux heures à 120 °C, l'agglutination des sérums O est conduite comme précédemment.

Détermination de l'antigène K

Elle consiste à rechercher les types d'Antigènes L, B ou A de la souche à l'aide des sérums spécifiques anti-L, anti-O + B et anti-A. Si la souche fait partie des groupes O 8 et O 9, il faut toujours rechercher l'Antigène A qui existe chez ces variétés sérologiques d'*Escherichia coli*.

Détermination de l'antigène H

Cette détermination se fait à l'aide d'un sérum H spécifique et avec une émulsion de microbes, sur lame ou en tube, qui sont laissés deux heures à 50 °C. L'agglutination ciliaire est floconneuse. Les Antigènes H des *Escherichia coli* sont tous monophasiques.

D'après ces données, on a jusqu'à présent identifié des *Escherichia coli* munis de l'Antigène O-1 jusqu'à O-146, homologués par le Centre International de Copenhague. Cependant, en pratique courante clinique, on se réfère principalement au tableau des diagnostics antigéniques des *Escherichia coli* de KAUFMANN. Ce tableau comprend vingt-cinq groupes O d'*Escherichia coli*, subdivisés en plusieurs groupes selon les antigènes O, K et H. Ces groupes ne comprennent pas les *Escherichia coli* des gastro-entérites infantiles, qui, comme nous le savons, comprennent les groupes O-111, O-112, O-55 et O-26.

KAUFMANN a identifié dix-sept Antigènes L, puis KNIBSCHILD (44) sept, soit vingt-quatre Antigènes L. Ce dernier auteur a décelé douze Antigènes A et trois Antigènes B auxquels il faut ajouter les Antigènes B 4, B 5 et B 6. Il existe dix-huit variétés d'Antigènes H. Les souches d'*Escherichia coli* immobiles ne sont pas séparées dans le tableau de KAUFMANN.

RISKOW, en étudiant les souches de WRAMBY (43) a isolé des antigènes nouveaux, de souche d'origine animale, ne figurant pas dans le tableau de KAUFMANN (*). Ces antigènes O sont principalement désignés par les n°s 114 à 123.

(*) Pour consulter le tableau de KAUFMANN, nous renvoyons à HAUDUROY, Dictionnaire des bactéries pathogènes, pages 234 à 235.

En plus de la caractérisation par la structure antigénique on a encore recours, surtout en clinique, à l'hémagglutination et à la recherche de différents ferments spécifiques.

L'hémagglutination est caractérisée par la propriété d'*Escherichia coli* d'agglutiner les hématies de nombreuses espèces animales, mais l'hémagglutination est plus forte avec les globules rouges du cobaye et du cheval qu'elle ne l'est avec les hématies du mouton et de l'homme. La technique est relativement simple : dans une goutte de sang défibriné, de cobaye ou de cheval, dilué à 10 % dans le soluté physiologique, on met en suspension une petite quantité de corps microbien prélevée à la périphérie d'une colonie bactérienne sur gélose. En quelques minutes on constate l'agglutination des hématies à l'œil nu ou à la loupe.

Citons à ce sujet la présence :

1. D'UNE HÉMOLYSINE. — Certaines variétés d'*Escherichia coli*, surtout d'origine urinaire ou appendiculaire, hémolysent les hématies de cheval en élaborant une hémolysine que l'on met en évidence dans un milieu liquide. Pour ce faire, on recueille 20 cm³ de sang de cheval dans 2 cm³ de solution citratée à 10 %. On centrifuge et on lave trois fois le culot dans le soluté physiologique. Finalement, on ramène, avec ce soluté, au volume primitif. A 2 cm³ d'eau peptonée à 10 pour mille, on ajoute quatre gouttes de la suspension globulaire. Onensemence les tubes avec une culture d'*Escherichia coli* à l'étuve. L'hémolyse doit se produire après vingt-quatre à quarante-huit heures. On a constaté que les *Escherichia coli* des groupes O-4 et O-6 sont souvent hémolytiques. Le facteur hémolytique est spécifique des *Coli-bacilles* et n'a pas pu être séparé des bactéries. Il est élaboré au cours de la phase logarithmique de croissance et nécessite la présence d'ions de Calcium pour hémolyser les hématies (ROBINSON, 1951)

2. D'UNE FIBRINOLYSINE. — Elaborée par les *Escherichia coli*, elle dissout la fibrine en poudre. On utilise, soit la fibrine de bœuf, soit la fibrine humaine. Lors de nos recherches personnelles, nous avons obtenu les meilleurs résultats avec le Fibrinogène de Bœuf Behring (Marburg). ZINSSER et WILLIAMS (51) recommandent une technique très simple : dans un tube contenant du plasma coagulé, on verse une goutte de culture en expérience. Après un séjour de vingt-quatre heures à 27 °C, on apprécie l'activité diastatique selon la hauteur du culot liquéfié. Nous avons préféré employer la méthode de G. MAYER (52) ayant recours au thrombographe de HIRTZ.

Colicines

Dans le groupe des *Entérobactéries*, certaines souches sont susceptibles de manifester une action antagoniste vis-à-vis d'autres souches du même groupe, à l'aide des substances actives (surtout produites par les souches du groupe *Coli-Klebsiella*) qui ont été appelées « colicines ».

GRATIA (1925-1932) avait montré l'activité d'une souche de *Coli V* sur une antisouche d'*Escherichia coli*. Depuis 1946, GRATIA et FREDERICQ (46),

puis FREDERICQ et LEVINE (47) ont montré que les phénomènes d'antibiose se rencontraient dans 25 % des cas et qu'il existait des différences très importantes, tant dans l'activité que dans la sensibilité suivant les germes envisagés. Ils ont individualisé une vingtaine de groupes de *Colicines* différenciables par leur spectre d'activité et un certain nombre de propriétés : diffusion dans la gélose et à travers la cellophane, thermo-sensibilité, destruction par les protéases. CHABBERT (48) a constaté que la plupart des souches productrices sécrètent, non pas une seule *Colicine*, mais des mélanges complexes pouvant aller jusqu'à six produits différents. HEATLEY et FLOREY, 1946 (49), ainsi que HALBERT et MAGNUSSE, 1948 (50), ont étudié une *Colicine* très active qu'ils ont partiellement purifiée, mais n'ont pas trouvé d'action nette chez l'animal.

Action de la glycine

Les Escherichia coli peuvent être lysés à l'étuve à 37 °C par une solution concentrée de glycine. Après deux heures de séjour à l'étuve à 37 °C, une lyse rapide survient atteignant son maximum en huit heures. L'importance et l'évolution de la lyse sont indépendantes de la concentration de la suspension bactérienne et augmentent d'après MACULLA et COWLES (53) en rapport avec la concentration de la glycine.

Ces différentes techniques biochimiques, sérologiques et enzymatiques, peuvent être employées pour le diagnostic des différents *Escherichia coli* et peuvent éventuellement expliquer les processus de mutation que nous avons eu l'occasion d'observer au cours de nos travaux personnels et que nous exposerons ci-après.

Lysogénie

Afin de comprendre le changement des propriétés biochimiques et sérologiques que nous avons constaté chez *Escherichia coli* de la flore humaine nous voudrions attirer l'attention sur le rôle éventuel de la lysogénie qui peut s'ajouter à celui des modifications de la structure antigénique et enzymatique.

Nos connaissances sur la lysogénie ont évolué à partir de la découverte des bactériophages en 1917 par D'HERELLE (54) faisant suite aux observations de TWORT (55). Les premières micro-photos électroniques des bactériophages ont été effectuées en 1941 par RUSKA (56), puis par LURIA et ANDERSON (57).

D'HERELLE a longtemps soutenu qu'il n'y avait qu'un seul bactériophage puisqu'il avait pu adapter son bactériophage du bacille de Shiga à toute une série de microbes intestinaux (*coli*, *typhique*, *salmonella*, *dysentérique*, etc.), mais il s'agit là de bactéries toutes Gram —, morphologiquement et antigéniquement très voisines. Nous savons aujourd'hui qu'il existe une grande pluralité de bactériophages, morphologiquement, lysogéniquement et lysotypiquement nettement différenciés et spécifiques. Morphologiquement ce

groupe de micro-organismes comprend un grand nombre d'espèces dont les dimensions varient entre 10 et 200 m μ et dont la classification systématique est difficile. Cependant, un certain nombre de phages sont actuellement bien étudiés et parmi ceux-ci, les *T-phages spécifiques des Escherichia coli* qui ont fait l'objet des travaux de DEMEREC et FANO (58). Leur caractéristique essentielle et commune réside dans le fait qu'ils attaquent tous une souche déterminée d'*Escherichia coli*.

Les *T-phages* peuvent être divisés en quatre groupes sérologiques qui ne donnent pas de réactions croisées entre-eux. Par contre, chaque souche est sérologiquement apparentée avec les autres souches du même groupe. On distingue donc :

- 1^{er} groupe : T-1 ;
- 2^e groupe : T-5 ;
- 3^e groupe : T-2, T-4 et T-6 ;
- 4^e groupe : T-3 et T-7.

De chaque souche de phages, on connaît des mutants qui ne différencient pas par leurs caractères sérologiques de leur souche mère, mais que l'on peut classer de la manière suivante :

1. Ceux de spécificité modifiée pour l'hôte (Host-range) et que l'on désigne par la lettre « h ».

2. Ceux d'aspect cultural modifié ; ils donnent une phagolyse (plaque) plus grande sur le support bactérien, celle-ci prend un aspect transparent limpide, alors qu'initialement elle est trouble. On les désigne par la lettre « r ». Il existe beaucoup de mutants *r* génétiquement différents, mais phénotypiquement identiques ; ceci dépend du « locus » qui est touché par la mutation. Une particule de phage T-2 qui subit une mutation au niveau « locus 7 et 13 » est par exemple désignée par T-2, r 7, 13. On connaît également des combinaisons de mutants *h* et *r* ; par exemple T-2, h, r 7.

3. Les variantes dont les rapports génétiques avec la souche spécifique du type ne sont pas exactement connues. On les désigne par les lettres majuscules, par exemple : T-2 H ou T-2 R.

4. Les mutants biochimiques qui se différencient de leur souche mère par leurs propriétés biochimiques. Il existe ainsi un mutant T-2 qui a besoin de *Tryptophane* pour pénétrer dans les bactéries ; cet acide aminé agissant comme cofacteur.

Au point de vue de leur forme et de leur taille, nous distinguons chez les *T-phages* les aspects suivants :

T-1 = tête petite, sphérique, queue droite ou légèrement incurvée ;

T-5 = tête également sphérique, mais de taille plus grande et la queue plus épaisse et plus longue.

Les phages T-2, T-4 et T-6 sont morphologiquement identiques au microscope électronique. Ressemblant à un bâtonnet court, épais, ils possèdent une tête assez grande, à aspect hexagonal, à angles aigus ou plus ou moins arrondis. La queue est moins longue, plus épaisse et d'habitude hypertrophiée à l'extrémité libre.

Les phages T-3 et T-7 ont une tête sphérique, qui semble être bilobée.

Les anciens chercheurs les croyaient démunis de queue, mais actuellement on a pu mettre en évidence ces organes qui sont cependant assez réduits.

Dans le tableau suivant nous avons rassemblé les différentes valeurs concernant ces phages d'après PUTTMANN (59).

Les divers aspects caractérisant la lyse bactériophagique

Les zones des cultures bactériologiques attaquées par les phages peuvent présenter divers aspects qui sont désignés par une terminologie, en général adoptée.

La « gamme » d'action d'un bactériophage est caractéristique pour chaque souche de bactérie envisagée. On distingue ainsi les différents aspects suivants :

LC = lyse confluyente, c'est-à-dire formation d'une plage lytique large et homogène ;

LC — = lyse presque confluyente ; on note dans la zone lytique de petites taches opaques formées par des bactéries survivantes ;

LC $\pm$ = lyse semi-confluyente ;

LO = lyse confluyente voilée ; il s'agit d'une plage opaque dans toute une étendue ;

L $\pm$ = quelques plages ou absence de réaction. Dans ce cas, on voit dans la plage lytique une grande partie recouverte de cultures secondaires résistantes.

LYSOTYPIC

Les diverses méthodes de détermination des *types bactériens par les bactériophages* sont très variées, parfois même, contradictoires.

Il est impossible de donner *a priori* la préférence à l'une ou à l'autre. Avec certaines bactéries, tel principe bactériophagique donne d'excellents résultats, qui pour une autre convient mal, se révèle même inapplicable.

Nous allons essayer d'expliquer ces phénomènes en nous référant au travail fondamental de NICOLLE, HAMON et EDLINGER (60) auquel nous renvoyons pour de plus amples détails.

Bien que le sujet de notre travail soit plus spécialement l'étude de la flore intestinale humaine normale ou pathologique, il nous paraît utile de donner ici un aperçu d'ensemble de la lysotypie et lysogénie, nécessaire à l'explication des phénomènes de mutation que nous avons observés. Nous allons donc exposer à présent la terminologie actuellement acceptée pour l'étude des bactériophages en nous basant sur la nomenclature proposée par BENZER et ses collaborateurs (61) en 1950 et celle, complétée par JACOB, LWOFF, SIMINOWITCH et WOLLMAN (62) en 1953, concernant la lysogénie et les bactériophages tempérés.

TABLEAU N° 2

Type	Phage	Tête en $m\mu$	Queue en $m\mu$	S 20	D 20	Vo	Poids des particules	
							S et D en 10^6	Biologique en 10^6
I	T-1	50	120×10					
II	T-5	90	170×15					
III	T-2	60×80	100×20	700	0,80	0,66	100	584
	T-4	60×80	100×20	825	0,45	0,66	100	460
	T-6	60×80	100×20					
IV	T-3	45		480	1,19	0,68	30-40	260
	T-7	45		650	0,18	0,83	30-40	300
	Staph. phage						530	

LÉGENDE. — Vo : volume spécifique pycnométriquement dosé (Détermination de la densité par pycnométrie). (Voir Codex, 1965, p. 1472.)

S 20° : constante de sédimentation à la température de 20 °C ;

D 20° : densité après ultra-centrifugation.

Cette présentation revêt nécessairement un aspect un peu dogmatique. Toutefois, étant donné l'interdépendance étroite des différents aspects de la *lysogénie*, il semble préférable, comme JACOB l'indique lui-même, de sacrifier temporairement la logique de cet exposé à ce qui devrait être la clarté. Nous nous excusons donc des quelques répétitions qui seront la conséquence inévitable de cette présentation, mais qui permettront, même aux non-initiés, la compréhension de ces conceptions nouvelles relatives au cycle des virus, à l'immunité cellulaire, aux doctrines concernant les rapports entre maladies infectieuses et non infectieuses et aux processus de mutation bactérienne.

TERMINOLOGIE

(d'après JACOB F., *Les bactéries lysogènes*, Masson, Paris, 1954)

APTITUDE : Condition physiologique permettant aux bactéries lysogènes de réagir à l'action des agents inducteurs par le développement du prophage. Contraire : inaptitude.

BACTÉRIE BACTÉRIOCINOGENE : Bactérie qui perpétue héréditairement le pouvoir de produire une *bactériocine* (voir ce mot). Cas particulier : bactérie colicinogène, bactérie pyocinogène.

BACTÉRIE LYSOGENE : Bactérie qui perpétue héréditairement le pouvoir de produire des bactériophages. La nature du prophage perpétué est exprimée par le symbole du phage entre parenthèses. Exemple : *Escherichia coli* K 12 (λ).

BACTÉRIE NON RÉCEPTIVE : Bactérie incapable d'absorber un bactériophage.

BACTÉRIE RÉCEPTIVE : Bactérie capable d'absorber un phage donné.

BACTÉRIE RÉSISTANTE (vis-à-vis d'un phage donné) : Bactérie qui n'est pas tuée par ce phage, soit qu'elle ne l'absorbe pas (faute, par exemple, de récepteurs), soit qu'elle l'absorbe et le neutralise, soit qu'elle devienne lysogène.

BACTÉRIOCINES : Terme groupant les protéines du type *Colicine*, dont la biosynthèse est létale et dont l'absorption est conditionnée par la présence d'un récepteur spécifique. Exemples : *colicines*, *pyocines*.

BACTÉRIOPHAGE HOMOLOGUE (d'un prophage donné) : Bactériophage formé par le développement de ce prophage.

BACTÉRIOPHAGE TEMPÉRÉ : Bactériophage capable de donner des systèmes lysogènes.

BACTÉRIOPHAGE VIRULENT : Bactériophage incapable de donner des systèmes lysogènes.

IMMUNITÉ : Etat conféré à une bactérie lysogène par la présence du prophage et qui lui permet de survivre à une infection bactériophagique. Une bactérie lysogène est toujours immune vis-à-vis du phage correspondant au prophage qu'elle perpétue.

INDUCTION (d'un prophage) : Déclenchement provoqué du développement du prophage en phage.

INFECTION ABORTIVE : Infection suivie de la disparition du complexe en tant que centre infectieux. La bactérie peut ou non survivre à une infection abortive.

LYSOCÉNISATION : Action de conférer la lysogénie à une bactérie non lysogène.

PROPHAGE (ou probactériophage) : Forme sous laquelle les bactéries lysogènes perpétuent le pouvoir de produire des *bactériophages*.

Comme on le voit dans cette nomenclature, on distingue *deux catégories de bactériophages* : *tempérés* et *virulents*, suivant qu'ils sont ou non capables de rendre lysogène une bactérie sensible. *Les bactériophages tempérés* forment dans les cultures sur gélose des plages, dont le centre est troublé par la croissance des bactéries devenues lysogènes. A partir de *tels bactériophages tempérés* on peut isoler des mutants qui forment uniquement des plages claires. Ils sont devenus des *bactériophages « virulents »*. Ces derniers bloquent, dans les bactéries sensibles, toutes les synthèses bactériennes qui ne concourent pas à la reproduction de bactériophages. *Les bactériophages tempérés*, par contre, ne bloquent pas totalement les synthèses proprement bactériennes au cours de leur multiplication.

Les bactériophages tempérés peuvent déterminer « *l'infection réductive ou lysogénisation* ». Certaines bactéries infectées échappent à la lyse, mais elles sont devenues « *lysogènes* », c'est-à-dire qu'elles ont acquis deux propriétés nouvelles : le pouvoir héréditaire de résister à l'effet lytique du bactériophage qui les a contaminées, lorsqu'on le met à nouveau en leur présence et le pouvoir, également héréditaire, d'élaborer et de libérer *ce même bactériophage*, en petite quantité, dans le milieu où elles se multiplient. Le pouvoir lysogène se perpétue héréditairement et la présence du bactériophage libre n'est pas nécessaire à la transmission de ce caractère. La propriété d'élaborer et de libérer du bactériophage, *sans addition de bactériophage extérieur*, peut, suivant les circonstances, se manifester ou demeurer à l'état potentiel.

Si l'on soumet certaines cultures lysogènes dites « *inductibles* » à l'action d'agents inducteurs physiques comme les rayons ultraviolets ou les rayons X, ou chimiques comme l'acide thiomalique, l'acide ascorbique, l'eau oxygénée et certaines substances mutagènes et cancérogènes comme le méthyl-bis, β , chloroéthylamine, toutes ou presque toutes les bactéries élaborent de nombreux corpuscules. Elles subissent la lyse et répandent autour d'elles une quantité considérable de corpuscules libres. C'est le phénomène de *l'induction de la lysogénie*.

Nous voudrions terminer *ce résumé* de la nomenclature bactériophagique en définissant brièvement le terme « *lysotypie* ».

Une espèce bactérienne est rarement composée d'échantillons, c'est-à-dire de souches, rigoureusement identiques. On constate, presque toujours, des différences entre ces souches, principalement dans leurs caractères antigéniques et biochimiques. On a donc été amené à subdiviser certaines espèces bactériennes en *variétés ou types antigéniques*, ce sont les « *serotypes* » ; et *biochimiques*, ce sont les « *biotypes* » ou mieux les « *chimiotypes* ».

Mais il se trouve que pour des espèces pathogènes comme *Salmonella typhi* ou *Salmonella paratyphi B*, les subdivisions en « *serotypes* » et « *chimio-types* » ne vont jamais très loin. Ce sont des espèces relativement homogènes du point de vue antigénique et biochimique. Or, pour des fins épidémiologiques, beaucoup plus que pour des fins systématiques pures, il a paru utile de chercher d'autres moyens de subdivision de ces espèces. On y est parvenu en mettant à profit l'extraordinaire diversité d'action des bactériophages. Le procédé qui consiste à subdiviser une espèce bactérienne par les bactériophages s'appelle la « *lysotypie* ». C'est le « *phage typing* » des auteurs de langue anglaise.

Si l'on éprouve par un bactériophage approprié plusieurs cultures d'une même espèce, on constate généralement que certaines cultures sont très sensibles à ce phage, tandis que d'autres sont très peu sensibles ou parfois même totalement réfractaires.

Par le moyen d'un seul bactériophage, on peut ainsi diviser les cultures de l'espèce envisagée en deux groupes : le groupe des cultures sensibles et celui des cultures réfractaires.

On conçoit facilement que, si l'on utilise non plus un seul bactériophage mais plusieurs, chacun d'entre eux ayant sa gamme d'activité propre, le nombre des groupes subdivisant l'espèce deviendra beaucoup plus important.

Pour cette raison on a créé des centres de *lysotypie*, en principe un seul centre national par pays, qui possèdent des collections de bactériophages actifs sur une espèce bactérienne ou un groupe d'espèces données. La *lysotypie* est ainsi d'une grande précision pour *Salmonella typhi* et *paratyphi B*, pour les *Staphylocoques* et les *Streptocoques*, pour les *Vibrions cholériques* et les *Vibrions d'El-Tor*. P. NICOLLE, LE MINOR et BUTTIAUX ont élaboré une technique de *lysotypie* pour des *Escherichia coli* pathogènes pour les nourrissons. Actuellement, cette méthode est en état de rendre de grands services en épidémiologie. Elle présente également un grand intérêt théorique du fait qu'il existe une relation entre les lysotypes d'une part et les caractères antigéniques flagellaires et biochimiques d'autre part.

PREMIÈRE ÉTAPE

Différence de sensibilité d'une espèce bactérienne à différents bactériophages

Par l'emploi d'une collection suffisamment nombreuse et variée de bactériophages, on peut mettre en évidence des différences de sensibilité entre les souches d'une même espèce bactérienne. On obtient pour chaque souche une certaine « *image de réactions* ». Ces images sont caractérisées non seulement par la lyse avec tel ou tel phage, mais aussi par l'intensité de cette lyse : lyse totale, lyse partielle, plages isolées, limpides, plages opaques et aspect de la culture secondaire.

Lorsque plusieurs souches fournissent une même image, on dit qu'elles appartiennent au même type. La superposition de ces images, à peu de choses près semblables, permet l'établissement du schéma lysotypique de ce type.

DEUXIÈME ÉTAPE

Recherche des phages spécifiques pour chaque type

La première méthode nécessitant l'emploi d'un nombre considérable de bactériophages, pour remédier à cet inconvénient, on essaiera de choisir parmi les bactériophages utilisés, ceux qui semblent être doués d'une certaine spécificité pour un type ou pour un groupe de types. Dans les cas les plus heureux, on trouvera un phage spécifique actif seulement sur le type homologue. Dans d'autres cas, il faut prendre en considération, en plus de l'action du phage spécifique, celle d'un ou plusieurs phages hétérologues.

TROISIÈME ÉTAPE

Préparation des phages adaptés

On ne réussit pas toujours du premier coup à trouver des phages suffisamment spécifiques dans leur action. Certains, en effet, n'acquièrent la spécificité du type qu'après adaptation préalable sur une souche de ce type. Ils deviennent alors, suivant une propriété très fréquente chez les bactériophages, extrêmement actifs sur la souche qui a servi à les régénérer et sur les souches du même type, en même temps qu'ils perdent une grande partie de leur pouvoir lytique pour les souches des autres types.

QUATRIÈME ÉTAPE

Emploi des dilutions critiques

Jusqu'à présent il n'a été question que de bactériophages à pouvoir lytique élevé, tels qu'ils sont obtenus par la lyse d'une culture sensible. L'obtention de bactériophages spécifiques adaptés va permettre de les employer en solution diluée. *La dilution critique est la plus grande dilution qui donne encore, dans une culture sur gélose, la lyse confluyente de la souche sur laquelle le phage a été adapté.* On comprend sans peine qu'en utilisant le phage spécifique à la dilution critique, on éliminera ainsi presque complètement les réactions sur les autres types.

Ainsi, la méthode gagnera une très grande précision.

CINQUIÈME ÉTAPE

Utilisation d'un unique bactériophage diversement « adapté »

Enfin, exceptionnellement, on trouvera un bactériophage doué d'affinité pour un antigène de l'espèce à lysotyper et capable de s'adapter à ce seul antigène qui peut exister dans différentes souches de cette espèce. On obtient ainsi toute une série de préparations bactériophagiques dérivées d'un même bactériophage initial et spécifique chacune d'un type.

Le seul cas dans lequel ce perfectionnement a pu être mis en application est celui réalisé par CRAIGIE et YEN en 1938 (63) avec le *Bacille typhique*. Il semble que c'est dans de telles conditions qu'une lysotypie est en mesure d'atteindre son plus haut degré de précision.

SIXIÈME ÉTAPE

Combinaisons de la lysotypie et d'une méthode de détermination de types biochimiques

KRISTENSEN (64) en 1938 a proposé de diviser l'espèce *S. typhi* d'après son action sur le xylose et l'arabinose. En pratiquant la lysotypie conjointement avec l'étude biochimique, OLITZKI *et ses collaborateurs* (65), JUDE et NICOLLE (66) en 1949, de BLASI et BUOGO (67) en 1952, ont pu subdiviser les principaux types bactériophagiques en trois types fermentatifs.

Ces expériences semblent actuellement dépassées par les travaux de PARDEE et WILLIAMS (68) qui ont montré que l'activité enzymatique des *T-phages infectant des Escherichia coli* n'est augmentée que pour la *Desoxyribonucléase*. On ne sait pas s'il s'agit vraiment d'une productivité accrue de l'enzyme ou d'une disparition d'un inhibiteur enzymatique. BAWDEN et PIRIE (69) ont montré que les ferments adaptés à la synthèse des composants du phage sont essentiellement fournis par l'organisme bactérien infecté. Ces données ont été prouvées par des expériences respiratoires et la consommation en O_2 , qui restent identiques dans les bactéries normales ou infectées. BOZEMAN *et ses collaborateurs* (70) ont constaté que des substances inhibant la synthèse protéinique d'une bactérie empêchent également celle des phages infectants.

Tous ces faits indiquent donc que le métabolisme enzymatique des phages est directement en rapport avec les propriétés biochimiques des bactéries hôtes.

LA LYSOGÉNIE ET SES APPLICATIONS

Nous insistons plus particulièrement sur cette étude puisqu'elle nous permettra d'expliquer les phénomènes de mutation que nous avons observés au cours de nos travaux personnels.

Pour que la lysogénie devienne accessible à l'analyse expérimentale, il fallait, comme l'écrivent WOLLMAN et JACOB (22), que l'on parvienne d'abord à distinguer les différentes relations qui peuvent exister entre bactéries et bactériophages. La plus extrême est celle existant entre les bactériophages virulents. L'infection, par de tels phages, aboutit inéluctablement à la mort de la bactérie et à la production de nouvelles particules (corpuscules) infectieuses. Il en est une autre réalisée avec les bactéries lysogènes chez lesquelles existe une association stable entre bactériophages et bactéries. Celle-ci apparemment inoffensive pour les bactéries aboutit cependant par la production de bactériophages actifs sur d'autres bactéries.

La lysogénie est ainsi, par définition, la propriété héréditaire qu'ont les bactéries de produire du bactériophage en l'absence de toute infection extrinsèque. Une bactérie lysogène possède donc et transmet à sa descendance le pouvoir de produire du bactériophage. Comme cette production aboutit à la destruction de la bactérie mère, le pouvoir qu'ont les bactéries lysogènes de produire du phage est donc un caractère létal potentiel selon LWOFF et GUTMAN (71). Les bactéries lysogènes ne contiennent pas de parti-

cule infectieuse de bactériophage. *A la forme non infectieuse, sous laquelle les bactéries lysogènes perpétuent le pouvoir de produire du phage, ces deux savants ont donné le nom de prophage.*

La *lysogénie* est un caractère héréditaire stable. On peut donc considérer que les propriétés qui distinguent une souche lysogène d'une souche non lysogène homologue sont l'expression *phénotypique d'un déterminant particulier, le prophage*. Ainsi peut-on définir le *prophage* comme l'élément qui, chez les bactéries lysogènes, porte l'information génétique nécessaire à la production d'un type donné de bactériophages et qui confère à ces bactéries certaines propriétés héréditaires spécifiques.

Si l'on admet l'hypothèse que *le prophage* est bien le matériel génétique du phage incorporé au matériel génétique bactérien, *la lysogénisation d'une bactérie* correspond à l'acquisition, par infection, d'un caractère héréditaire selon un mécanisme qui rappelle celui de la « *transformation* » du *Pneumocoque*. On sait en effet, que l'induction spécifique d'un changement héréditaire fut réalisée par GRIFFITH (72) qui en 1928 parvint à « *transformer* » un *Pneumocoque* sans capsule, en forme encapsulée d'un type choisi. L'étude des extraits bactériens doués du pouvoir transformant a révélé à AVERY, MAC LEOD et MAC CARTHY (73) que l'agent responsable de la transformation était *un acide désoxyribonucléique polymérisé*. Ces résultats ont depuis lors été étendus à d'autres caractères du *Pneumocoque*. Ils ont été retrouvés également chez d'autres espèces microbiennes telles que les *Hémophilées* et les *Méningocoques*. Ainsi, s'est progressivement dégagée la notion nouvelle, *qu'un acide nucléique* de bactéries donneuses pouvait induire un caractère génétique nouveau chez les bactéries receveuses. Tout se passe comme si les chromosomes ou des fragments de chromosomes issus des bactéries donneuses pouvaient conserver *in vitro* leurs propriétés biologiques, pénétrer dans les bactéries receveuses et s'incorporer au matériel génétique de celles-ci à la suite de *quelque mécanisme de recombinaison*. Il est clair que ces phénomènes de transformation présentent des analogies frappantes avec l'acquisition *d'un prophage* par une bactérie sensible. Les données recueillies sur *la transformation d'un Pneumocoque rugueux en type lisse*, indiquent que celle-ci semble plutôt correspondre à la substitution d'un segment génétique de la bactérie receveuse à un segment homologue issu du donneur, tandis que *la lysogénisation* paraît correspondre plutôt à *l'addition pure et simple* du matériel génétique du phage à celui de la bactérie.

Or, nos connaissances sur les phénomènes de *recombinaison génétique* chez les bactéries se sont particulièrement développées ces dernières années grâce à la découverte de la souche K-12 d'*Escherichia coli*. Ce germe est lysogène et *des mutants non lysogènes* de cette souche ont pu être isolés. Il devenait ainsi possible de réaliser des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes, puis d'étudier le comportement du caractère lysogène au cours de ces croisements. Cette étude a permis d'*élucider les déterminismes génétiques de la lysogénie*. Inversement, l'analyse génétique des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes a beaucoup contribué à préciser nos connaissances sur le mécanisme de la conjugaison et de la recombinaison génétique chez les bactéries.

Cette étude, effectuée au moyen de la souche K-12 d'*Escherichia coli*, a permis d'établir qu'il existe une homologie entre l'appareil génétique de ces germes et celui des organismes plus évolués. D'après WOLLMAN et JACOB (22), la conjugaison bactérienne a lieu entre bactéries de types sexuels opposés. Ce processus peut être assimilé à une fécondation, le transfert de matériel génétique se faisant en sens unique de bactéries donatrices (qui jouent le rôle de mâle) à bactéries réceptrices (qui peuvent être comparées à des femelles). Cette différenciation sexuelle a cependant des conséquences génétiques inconnues chez les organismes supérieurs. Les recombinants génétiques obtenus reçoivent plus de caractères génétiques des bactéries réceptrices que des bactéries donatrices.

Pendant plusieurs années, les seuls croisements que l'on était à même de réaliser chez les bactéries étaient des croisements entre bactéries donatrices $F+$ (F = processus de Fécondation) et bactéries réceptrices $F-$ où le nombre des recombinants obtenus est toujours très restreint. Ces croisements à « basse fréquence de recombinaison », ont permis d'aborder de nombreux problèmes génétiques inaccessibles auparavant.

L'un de ces problèmes est celui du déterminisme génétique de la lysogénie. L'analyse génétique a permis ainsi d'établir la nature de l'association qui, chez les bactéries lysogènes, existe entre le matériel génétique d'un virus, bactériophage, et celui de la bactérie. La souche K-12 d'*Escherichia coli* est lysogène pour un bactériophage que l'on a désigné par la lettre grecque λ . Dans ces croisements à basse fréquence de recombinaison, les résultats des croisements réciproques entre les bactéries lysogènes et les bactéries non lysogènes diffèrent ; alors que la ségrégation du caractère lysogène s'observe lorsque ce sont les bactéries réceptrices $F-$ qui sont lysogènes : le caractère lysogène n'est pour ainsi dire jamais transmis à des recombinants lorsque le prophage λ est porté par les bactéries donatrices $F+$. L'analyse du déroulement des événements à l'échelon des bactéries individuelles a été rendue possible grâce à la découverte de souches donatrices à « haute fréquence de recombinaison » (souches désignées par Hfr). L'analyse de ces croisements confirme le transfert de matériel génétique à sens unique des bactéries donatrices aux bactéries réceptrices. Elle montre en outre, que chaque caractère du parent Hfr est transmis aux recombinants avec une fréquence caractéristique. On peut ainsi dresser une carte génétique des caractères du parent Hfr et les disposer sur un seul groupe de liaison dans l'ordre : « T » (thrénine), « L » (leucine), « Lac » (lactose), « Gal » (galactose), « Tr » (tryptophane), « H » (histidine), « Sm » (streptomycine), « Xyl » (Xylose), « M » (méthionine), « B-1 » (thiamine). Le long de ce groupe de liaisons, il existe une polarité telle qu'un caractère génétique est transmis à des recombinants avec une fréquence d'autant plus grande qu'il est situé plus près des caractères T et L. Le segment T-L-Gal-Tr-H est ainsi transmis à haute fréquence alors que les caractères situés au-delà de Sm, ne sont transmis qu'à basse fréquence par les bactéries Hfr H.

Dans les croisements entre bactéries $F-$ lysogènes par le phage et bactéries Hfr H non lysogènes, on observe la ségrégation du caractère lysogène

parmi les recombinants obtenus et l'on peut localiser le déterminant génétique de la lysogénie sur le chromosome bactérien.

Dans les croisements où les souches Hfr H et F — sont l'une et l'autre lysogènes, mais perpétuent des prophages λ génétiquement distincts, les caractères lysogènes des types parentaux ségrègent parmi les recombinants, ce qui démontre que le prophage lui-même est le seul déterminant génétique de la lysogénie. On peut ainsi localiser le prophage λ sur le chromosome de la bactérie Hfr H, au voisinage du locus « Gal » et au-delà de ce déterminant par rapport aux caractères T-L.

Un certain nombre de bactériophages tempérés, tous actifs sur la souche *Escherichia coli* K-12, ont été isolés. Les uns sont inductibles par la lumière U-V, les autres ne le sont pas. L'analyse génétique des croisements entre bactéries Hfr H non lysogènes et bactéries F — lysogènes a permis de démontrer qu'à chaque prophage correspond une position spécifique sur le chromosome de la bactérie. Tous les prophages inductibles peuvent ainsi être localisés sur le chromosome bactérien au-delà du caractère Galactose. Les prophages non inductibles au contraire, sont liés à des caractères génétiques qui ne sont transmis qu'à basse fréquence par les bactéries Hfr H.

Dans les croisements entre bactéries Hfr H lysogènes par le phage et bactéries F — non lysogènes, le caractère lysogène des bactéries donatrices n'est pour ainsi dire jamais retrouvé chez les recombinants. En effet, le prophage est induit par la conjugaison et son développement dans les bactéries réceptrices a pour conséquence la lyse de ces bactéries et la libération de particules infectieuses de phage. C'est « l'induction zygotique ».

Ainsi, quoique la lysogénie soit un caractère héréditaire dont le déterminant est situé sur le chromosome bactérien, ce caractère, dans le cas d'un prophage inductible tel que λ est en apparence hérité par voie maternelle. En effet, lorsque le prophage λ est porté par la bactérie mâle donatrice, il n'est jamais transmis à la descendance à la suite d'un croisement. Il se comporte comme un caractère létal qui s'exprime dès le stade zygote.

Ainsi, le caractère essentiel de la conjugaison, chez *Escherichia coli* K-12, réside dans le mécanisme du transfert génétique. Les collisions entre bactéries de types sexuels opposés aboutissent à la formation d'appariements spécifiques entre ces bactéries. Le chromosome de la bactérie donatrice commence à pénétrer par l'une de ses extrémités 0, toujours la même pour un type donné de bactérie Hfr, dans la bactérie réceptrice. Ce processus est assez lent pour qu'il puisse être interrompu à volonté, en un point quelconque du chromosome bactérien. Le transfert de la totalité du chromosome de la bactérie Hfr durerait, dans les conditions habituelles des croisements, une centaine de minutes si, au cours de la lente progression du chromosome, des ruptures spontanées se produisaient. Dans leur immense majorité, les zygotes formés, n'ayant reçu qu'un segment chromosomique des bactéries donatrices, sont incomplets.

Dans les croisements entre bactéries F + et F —, la basse fréquence de recombinaison observée est la conséquence, non d'une basse fréquence de la conjugaison, mais d'une basse fréquence du transfert de matériel géné-

tique. Les recombinants sont, en effet, formés par de rares mutants Hfr survenant spontanément au cours de la croissance des bactéries F +. Les mutants Hfr ainsi isolés à partir d'une ou de plusieurs souches F + diffèrent entre eux, non par la séquence des caractères, mais par l'ordre dans lequel ces caractères sont transmis. Le groupe de liaison d'un type Hfr particulier peut donc être représenté par une *structure linéaire orientée* comportant une extrémité proximale (origine) et une extrémité distale.

Quels que soient les caractères qui se trouvent transférés les premiers au cours de la conjugaison et quel que soit l'ordre de transfert chez différents types de Hfr, il existe cependant un ordre univoque selon lequel les différents caractères génétiques d'*Escherichia coli* K-12 peuvent être disposés. On est ainsi conduit à répartir l'ensemble des caractères généraux d'*Escherichia coli* K-12 sur une courbe fermée. Dans cette représentation, le groupe de liaison d'un type Hfr particulier peut être obtenu en ouvrant en un point déterminé la courbe fermée et en insérant l'origine 0 à l'une des deux extrémités ainsi formées.

Les bactéries donatrices (F + ou Hfr) contiennent un facteur sexuel F qui est absent des bactéries réceptrices (F —). Toutefois, l'analyse génétique indique que le facteur F ne représente pas les mêmes propriétés chez les bactéries F + ou Hfr. Chez les bactéries F + (qui, par conjugaison, transmettent aux bactéries F — le facteur F à haute fréquence à l'exclusion de tout caractère nutritionnel), le facteur F lorsqu'il est transmis à basse fréquence, paraît exister sous forme autonome, indépendante du chromosome bactérien. Chez les bactéries Hfr, au contraire, le facteur F paraît fixé à l'extrémité distale du chromosome bactérien. La mutation (F + en Hfr) peut alors se concevoir comme la fixation du facteur F en un point du chromosome fermé. Cette fixation entraînerait l'ouverture du chromosome, l'une des deux extrémités ainsi formées portant le facteur F deviendrait l'extrémité distale, l'autre, l'extrémité proximale (origine). Selon ce schéma, les bactéries F — posséderaient un chromosome fermé et pas de facteur sexuel ; les bactéries F +, un chromosome fermé et un facteur sexuel sous forme d'unités autonomes ; les bactéries Hfr, un chromosome ouvert, linéaire et un facteur sexuel intégré par fixation à l'extrémité distale du chromosome.

Au point de vue génétique, la *lysogénie* représente donc quelque chose de tout à fait remarquable. Le matériel génétique d'un bactériophage tempéré, en effet, peut être considéré comme extrinsèque à la bactérie. Dans une bactérie, il peut exister sous deux états différents, l'un étant autonome et l'autre intégré. L'analyse génétique a révélé que, outre les *phages tempérés*, d'autres éléments génétiques des bactéries présentent des propriétés analogues. C'est le cas du *facteur sexuel des bactéries et des déterminants gouvernant la synthèse de certains antibiotiques ou bactériocines*. WOLLMAN et JACOB (22) proposent le terme d'*épisomes* pour désigner ces éléments génétiques qui peuvent être ajoutés à une cellule et qui, dans cette cellule, peuvent exister sous deux états distincts, autonome ou intégré.

Les expériences de WOLLMAN et JACOB (22) concernant les différents processus de la *lysogénie et de la transmission des caractères génétiques* ainsi que les travaux de BEADLE et TATUM (74) ont démontré que les caractères

nutritionnels et les réactions métaboliques étaient accessibles à l'analyse mendélienne. Ils ont été ainsi à l'origine du prodigieux essor de la *génétique*, *physiologique et biochimique* qui a établi une relation étroite entre les *déterminants génétiques et les réactions biochimiques qu'ils gouvernent*. Ces faits peuvent servir de base pour expliquer les phénomènes de mutation que nous avons pu constater lors de *nos travaux personnels* où nous avons pu mettre en évidence l'apparition de souches d'*Escherichia coli* ayant, dans nos conditions expérimentales, acquis des *propriétés biogénétiques très variées*, nous permettant ainsi d'isoler une souche d'*Escherichia coli* à caractères biochimiques, enzymatiques, antigéniques et probablement génétiques stables et spécifiques.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE V

ÉTUDE DU COMPORTEMENT DE LA FLORE INTESTINALE NORMALE

Discussion sur l'importance de la coliflore dans le fonctionnement physiologique du tube digestif

A la suite des travaux de BESREDKA (75), de LUMIÈRE (76), de GEHLINGER (77) et de ZADEK (78), on a essayé de traiter toutes les affections de l'intestin par une *bactériothérapie* (terme employé par P. GASTINEL [79]) avec plus ou moins de succès.

L'utilisation de *vaccins* dans les affections où non seulement le dysmicrobisme du milieu intestinal, mais encore l'infection de la muqueuse et de la paroi sont fréquents, a permis, comme le dit GOIFFON (15), d'instaurer une *thérapie* qui permettait tous les espoirs. On pensait ainsi, non seulement protéger la paroi intestinale elle-même, mais encore provoquer la formation d'anticorps qui, déversés avec les sécrétions intestinales, devaient régulariser le microbisme du milieu digestif.

Cette *thérapeutique des colites* a donné des résultats divers, sans qu'il soit vraiment possible de prévoir dans quels cas il faut l'appliquer. Ainsi, GOIFFON note des insuccès dans des cas où l'infection pariétale est évidente et des succès en cas de troubles qui semblent uniquement fonctionnels. Alors qu'une *forme de vaccin a échoué, une autre forme réussit* chez le même malade. CHIRAY, LARDENNOIS et BAUMANN (80) obtiennent des guérisons fréquentes par voie rectale, en utilisant un bouillon vacciné. GOIFFON et PRETET ont fabriqué des *autovaccins d'origine gingivale* qui leur ont donné un pourcentage remarquable de succès, sans régime et se traduisant aussi bien par la sédation des troubles digestifs que par la suppression des phénomènes et l'augmentation du poids.

A ce sujet, il est intéressant d'exposer la conception de NISSLE (11) concernant sa « *mutaflore-thérapie* ». Cet auteur a constaté que certaines souches de *Colibacilles* avaient une action antagoniste contre *Eberthella typhosa* et peuvent conférer une certaine protection contre les *infections typhiques*. A la suite de ces constatations, NISSLE a développé sa théorie selon laquelle

un grand nombre de processus morbides localisés ou non au tube digestif sont imputables à la présence dans le gros intestin d'une flore affaiblie et par conséquent peu active. D'après cet auteur, la *résistance naturelle d'un sujet dépend autant de la vitalité de la souche de Colibacilles idiogènes* que des moyens de défense naturels de ce sujet. C'est pour cette raison que NISSLE (11) détermine la valeur biologique d'une souche de *Colibacilles* d'après ce qu'il appelle son « *coli-index-antagoniste* », c'est-à-dire son pouvoir antagoniste contre le *Bacille typhique*. NISSLE admet par conséquent qu'une souche de *Colibacilles* à pouvoir antagoniste contre *Eberthella typhosa* est également active contre les autres bactéries hétérogènes du tube digestif.

En se basant sur cette conception, NISSLE a élaboré son vaccin « *mutaflore* » qui est constitué par des souches de *Colibacilles antagonistes du Bacille typhique*, mises en suspension dans de la graisse et incorporées dans des capsules glutinisées pour les protéger pendant leur passage dans l'estomac. Il applique cette bactériothérapie non seulement contre les infections spécifiques intestinales (*fièvre typhoïde, salmonellose et dysentérie*), mais également dans des *troubles intestinaux non spécifiques*, tels que les dyspepsies, les gastro-entérites, les colites, les constipations, etc., qui présentent une flore intestinale anormale que NISSLE appelle « *disbactérie* ».

BAUMGAERTEL (12) a repris les travaux de NISSLE et il objecte principalement à la concetion de ce dernier le fait que la « *mutaflore* » est constituée par un germe *Escherichia coli* présentant un antagonisme marqué contre *Eberthella typhosa*, mais qui ne permet pas de conclure à un même antagonisme vis-à-vis d'autres germes présents dans le tractus intestinal au cours d'autres symptômes pathologiques. Au cours de ses travaux, BAUMGAERTEL a constaté des phénomènes de dégénérescence chez les souches de *Colibacilles de la « mutaflore » implantée*. En étudiant ces phénomènes sur ces souches mêmes et sur d'autres agents des maladies intestinales, il a remarqué que les souches de *Colibacilles* de sujets normaux ainsi que celles dégénérées de la « *mutaflore* » avaient un caractère biologique spécifique, puisqu'elles sont capables de se développer sur la *gélose au Rouge de phénol-vert brillant*. Ce caractère peut donc servir de test pour contrôler la *flore intestinale des sujets normaux et la survie de souches de Colibacilles employés dans la bactériothérapie*.

Au cours de nos recherches, nous nous sommes servis de ce test pour vérifier le sort des bactéries vaccinales administrées.

Expériences personnelles

Nous avons eu recours aux matières fécales prélevées immédiatement après la défécation, chez cinq sujets cliniquement sains et soumis à une alimentation mixte identique.

Cinq fractions de 1 g de ces selles sont mises en suspension dans 10 ml de soluté physiologique, agitées pendant dix minutes, puis soumises aux examens suivants :

1. On procède à l'examen microscopique après avoir préparé cinq lames, dont l'une servira pour l'examen entre lame et lamelle et les quatre autres à la confection de frottis. Pour ces derniers, nous faisons une coloration simple, une coloration par la méthode de *Gram*, une coloration par le liquide de Lugol et une coloration de *May-Grunwald* + *Giemsa* (frottis non fixé par la chaleur).

Ces examens directs servent à l'orientation générale de la composition de la flore et permettent surtout de mettre en évidence la présence de la flore iodophile normale (*Clostridies* et *Leptothrix*) ainsi que les champignons inférieurs (*moisissures* et *levures*), la proportion de bactéries Gram + et Gram — et celle de la flore cocciqye et des bâtonnets.

2. Une autre fraction de la suspension de selles sert à l'examen cultural pour déterminer la proportion de bactéries aérobies et anaérobies. Pour la culture des aérobies, nous avons procédé à des dilutions progressives dont on ensemence 0,1 ml sur les milieux suivants :

— *Milieu de Mac Conkey* (combinaison des milieux *d'Endo* et de *Drigalski*) ;

— *Milieu de Kligler* au fer (milieu d'identification), important dans notre cas, surtout pour les *Coliformes*, *Alcaligènes*, *Aerobacter* et *Proteus* ;

— *Milieu au rouge de phénol-vert brillant*.

Pour la culture des anaérobies, on ensemence 0,1 ml des mêmes dilutions progressives sur les milieux suivants :

— *Bouillon Vf additionné de réductose, comme milieu liquide* ;

— *Gélose profonde Vf* ;

— *Brewer anaérobie Agar* DIFCO en boîtes de Pétri.

NUMÉRATION ET IDENTIFICATION DES GERMES

La numération des germes est effectuée sur les cultures primaires en milieu liquide, en tenant compte de la dilution du prélèvement donnant encore une croissance perceptible et sur les milieux solides en boîtes de Pétri, par comptage des colonies, selon HALLMANN (81).

A ce sujet, nous préparons une suspension homogène de 1 g de matière fécale dans 100 ml de soluté physiologique. Nous employons un milieu riche en substances nutritives, enfin, nous en profitons pour combiner à cette analyse la recherche de la numération des Anaérobies.

Nous avons employé le milieu recommandé par A. et R. SARTORY et J. MEYER (82) :

— Pour les cultures en aérobiose

Peptone	20 g
Glucose	5 g
Glycérine	2 g
Chlorure de Sodium	3 g
Phosphate bipotassique	1 g
Gélose	20 g
Eau	1 000 ml

— Pour les cultures en anaérobiose, nous avons disposé les boîtes de Pétri sous la cloche à vide.

Nous donnons dans le tableau suivant, la disposition de l'analyse quantitative générale.

TABLEAU N° 3

Boîtes N°	Concentration de la suspension fécale	Dose de suspension à introduire	Taux définitif de la suspension à analyser en mg
Aérobiose			
1	1/0	1	10
2	1/0	0,5	5
3	1/0	0,2	2
4	1/10	1	1
5	1/10	0,5	0,5
6	1/10	0,2	0,2
7	1/100	1	0,1
8	1/100	0,5	0,05
9	1/100	0,2	0,02
Anaérobiose			
10	1/0	2	20
11	1/0	1	10
12	1/10	2	2
13	1/10	1	1
14	1/100	2	0,2
15	1/100	1	0,1

Toutes ces dilutions ont été introduites dans 20 ml de milieu peptoné-gélosé contenu dans des tubes stérilisés que l'on liquéfie au bain-marie à 45 °C. On mélange soigneusement les différentes doses de la suspension fécale diluée au 1/100 dans 20 ml de gélose liquéfiée à 40-45 °C et on coule dans des boîtes de Pétri stérilisées.

On porte les boîtes 1 à 9 dans l'étuve à 37 °C et les boîtes 10 à 15 sous la cloche à vide munie d'un dispositif de chauffage électrique permettant de cultiver à 37 °C.

On examine au bout de vingt-quatre heures, de deux, trois, quatre, jusqu'à huit jours pour choisir les boîtes se prêtant le mieux à la numération, en marquant chaque fois au crayon gras, les colonies comptées. Finalement, on totalise le nombre des colonies ainsi comptées pour amener le résultat définitif à huit jours de cultures et pour 1 g de selles.

TABLEAU N° 4

Pourcentage des germes fécaux après culture en aérobic

Prélèvement N°	Sujet N°	Escherichia	Klebsiella Aerobacter	Proteus	Lacto- bacilles	Coques	Bâtonnets sporulés	Nombre total en millions/g (moyenne)
I	1	66,3	4,2	2,0	14,6	8,4	4,5	1 750
	2	40,0	—	5,2	31,0	23,0	0,8	
	3	56,5	6,0	1,6	22,0	10,5	3,4	
	4	32,0	8,1	1,9	39,4	16,5	2,1	
	5	74,4	1,4	0,2	18,6	3,3	2,1	
II	1	61,4	5,5	6,1	3,7	15,3	8,0	2 250
	2	37,5	12,4	9,1	20,9	11,1	9,0	
	3	68,0	4,8	5,2	14,2	5,4	2,4	
	4	77,0	2,2	1,5	5,8	9,0	4,5	
	5	41,6	8,4	9,3	22,3	6,0	12,4	
III	1	69,8	—	—	3,2	13,5	13,5	4 720
	2	73,2	—	—	0,8	9,6	16,4	
	3	60,5	2,5	—	2,0	13,2	21,8	
	4	75,0	—	4,4	—	8,0	12,6	
	5	68,9	2,1	4,5	5,7	10,4	18,4	
IV	1	39,1	11,6	3,3	31,3	13,2	1,5	8 260
	2	47,6	12,0	5,4	24,6	9,8	0,6	
	3	32,8	16,2	9,0	25,0	15,6	1,4	
	4	40,0	18,3	3,6	18,6	16,3	3,2	
	5	42,5	16,3	5,2	17,9	16,0	2,1	
V	1	74,4	—	—	14,6	10,5	0,5	850
	2	78,2	—	—	13,4	8,4	—	
	3	59,5	4,1	2,1	18,8	12,3	3,2	
	4	82,3	—	—	10,5	7,2	—	
	5	69,2	0,8	1,5	16,7	8,8	3,0	
Moyenne		58,32	5,48	3,25	15,83	11,25	5,86	

TABLEAU N° 5

Pourcentage des germes fécaux après culture en anaérobiose

Prélèvement N°	Sujet N°	B. Gram + Bifidobact. Catenabact.	B. Gram — Sphacro- phorus, Vibrions, Ristellacées	Clostri- dium	Welchia perfringens	Plectridies	Coques	Nombre total en millions/g (moyenne)
I	1	22,4	16,2	28,4	4,2	13,2	15,6	5 950
	2	34,2	22,4	15,2	8,6	10,0	9,6	
	3	38,1	11,6	15,6	5,0	9,4	20,3	
	4	21,6	28,0	30,2	2,7	7,4	10,1	
	5	23,4	30,3	16,8	7,2	9,3	13,0	
II	1	40,2	10,4	22,3	1,4	5,4	20,3	4 780
	2	25,8	27,5	14,8	4,1	9,3	22,6	
	3	33,6	16,7	20,4	5,4	9,6	14,3	
	4	21,4	25,6	20,4	7,6	12,4	12,6	
	5	42,3	12,8	13,8	2,2	4,2	24,7	
III	1	25,6	20,6	25,0	2,2	10,2	16,4	12 650
	2	34,3	18,6	7,6	4,5	7,4	18,2	
	3	29,4	21,6	10,4	3,0	13,4	22,2	
	4	42,2	5,8	9,4	—	10,2	32,4	
	5	44,8	14,5	10,0	0,6	13,4	17,0	
IV	1	20,4	40,0	20,3	6,5	6,3	6,5	16 400
	2	18,7	36,3	21,8	4,4	8,2	10,6	
	3	16,7	42,4	22,7	—	5,0	13,2	
	4	32,6	28,7	12,8	2,6	7,2	16,1	
	5	22,4	45,6	16,6	1,5	8,4	5,5	
V	1	39,8	16,2	7,9	9,2	—	26,9	4 260
	2	40,3	11,0	4,8	10,8	2,7	30,4	
	3	50,1	15,4	10,5	6,1	2,5	15,4	
	4	39,8	20,1	12,3	10,0	4,1	13,7	
	5	40,6	26,0	8,8	4,6	1,8	18,2	
Moyenne		32,0	17,36	15,95	4,57	7,64	17,43	

INTERPRÉTATION

En envisageant tout d'abord la flore aérobie, nous constatons que la proportion de germes Gram — est largement prépondérante, fait connu depuis longtemps. Le rapport moyen chez nos sujets considérés comme sains est

sensiblement : $\frac{\text{Gram négatif } 64}{\text{Gram positif } 36} = \frac{1,8}{1}$ ou $\frac{1,8}{1}$, rapport qui se rapproche

de celui indiqué par STRASBURGER (83) et par GOIFFON (10) comme étant

$\frac{2,3}{1,0}$. Il ne faut cependant pas oublier que cette dernière valeur tient

surtout compte de l'étude directe des frottis effectués à partir de selles
flore rouge
fraîches (—————). Nous aurons l'occasion de revenir sur cette question.
flore bleue

Le rapport entre les bâtonnets Gram — et les Coques est environ 6/1 et

$\frac{\text{Escherichia coli}}{\text{Lactobacilles}}$ est de 4/1.

Il faut noter d'autre part, que parmi le groupe des Gram —, la proportion de *Klebsiella* et d'*Aerobacter* est très faible par rapport aux *Escherichia coli*, de l'ordre de 1/12. Le nombre des *Proteus* est insignifiant, alors que les bâtonnets sporulés doivent être pris en considération.

L'examen du tableau n° 5 montre que la flore anaérobie n'est pas négligeable dans les selles normales : en effet, si la flore aérobie se chiffre entre huit cents millions et huit milliards de germes par gramme de matières fécales fraîches, la flore anaérobie s'évalue entre quatre et seize milliards par gramme de selles fraîches.

Les analyses quantitatives montrent que les bactéries Gram — parmi lesquelles nous considérons surtout les *Ristella*, *Sphaerosporus* et *Vibrions*, ne représentent que 17 à 18 % de la flore anaérobie.

Parmi la flore anaérobie Gram +, la fraction la plus importante est constituée par les *Bifidobactéries* et des *Catenabactéries* (environ 30 à 35 % globalement). Viennent ensuite les *Coques* et les *Clostridies* qui sont environ dans une proportion de 15 à 20 % pour chaque groupe. Nos investigations sur les bactéries anaérobies sporulées ont montré la présence de *Plectridies*, que nous pouvons évaluer à environ 5 à 10 %, puis divers *Welchia*, avec *Welchia perfringens* comme élément essentiel (5 % environ).

Nos recherches sur la flore anaérobie nous ont permis de constater que, contrairement à l'opinion généralement admise, les bactéries Gram — ne constituent pas la fraction essentielle de la flore intestinale normale.

A ce sujet, nous tenons à spécifier que nous n'avons pas pris en considération les germes aérobies microaérophiles, tels que les *Escherichia*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, etc., qui n'ont rien à faire avec les anaérobies vraies

et dont la numération parmi ces dernières ferait double emploi, puisqu'ils seraient comptés à la fois *comme aérobies et anaérobies*. D'autre part, dans les recherches de ce genre, les méthodes de culture doivent être choisies de telle sorte que seules les *bactéries anaérobies strictes* puissent se développer. Nous ne pouvons donc pas partager l'opinion de certains auteurs (WILSON et MILLES, 1955, EGGERTH et GAGNON, 1933, MORTON et MURRAY, 1953, ZUBRZYCKI et SPAULDING, 1962 et SEELIGER et WERNER, 1963), qui ont estimé que le nombre *des anaérobies Gram* — dépasse largement celui *des aérobies Gram* —. De même, il nous semble erroné de vouloir se baser, pour la numération des *Escherichia*, sur les résultats des cultures *en anaérobiose* où, d'après ces mêmes auteurs, leur nombre serait généralement plus élevé que dans les cultures *en aérobiose*. Finalement, nous ne pouvons pas partager non plus, l'opinion qui fait état d'une prépondérance *des germes anaérobies Gram* — sur les *Escherichia*, puisque nous trouvons un rapport de 1/4. SEELIGER et WERNER (8 a) ont même montré, tout récemment, que *Escherichia coli* se trouve en quantité importante aussi chez les nourrissons au sein, au détriment de la flore anaérobie (*Bifidus*, etc.). ZUBRZYCKI et SPAULDING (15) croient à la forte présence d'*anaérobies diphtéroïdes, cependant Gram + et de Bactéroïdes melaninogenicus* (Ristella de la classification de PRÉVOT) *anaérobie Gram* —, que ces auteurs prétendent facilement cultivables et rapidement identifiables en culture. Or, BERCEY (84) a catalogué ce germe parmi les *Hemophilus*, preuve qu'il pousse difficilement en culture pure, de sorte que les conclusions de ZUBRZYCKI et SPAULDING (15) nous semblent encore à vérifier.

Si l'on prend en considération l'ensemble de nos résultats concernant les *germes aérobies et anaérobies*, on constate que le rapport des *Gram* — sur

1,1
les *Gram* + est de $\frac{\quad}{1,13}$ environ et que *Escherichia coli* est le composant

principal de la flore intestinale normale. C'est pourquoi nous avons tenu à faire une étude différentielle de cette famille.

DIFFÉRENCIATION DES *ESCHERICHIA* RENCONTRÉS DANS NOS ESSAIS

Dans ces recherches, nous nous sommes inspirés des travaux de LEINBROCK (85) et de BAUMGAERTEL (12). Les prélèvements ont été effectués chez nos sujets à cinq reprises, avec un intervalle de quatre heures chaque fois. Le même protocole expérimental a été répété quinze jours plus tard, après un régime végétarien alcalinisant. Les *Escherichia coli* ont été isolés des cultures *en aérobiose* et nous avons étudié cinq colonies chaque fois au point de vue de leurs propriétés biochimiques.

Parallèlement, nous avons ensemencé les cinquante souches obtenues sur les milieux d'épreuve d'ENDO et au Rouge Phénol-vert brillant.

Nous donnons ci-dessous, dans les tableaux n^{os} 6 et 7, les résultats obtenus dans ces deux séries d'examen.

TABLEAU N° 6

Prélèvement immédiat

Prélèvement N°	Sujet N°	Glucose	Lévulose	Galactose	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Maltose	Lactose	Sorbitol	Saccharose	Raffinose	Adonite	Dulcité	Salicine
I	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
II	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
III	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
IV	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
V	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+

TABLEAU N° 7

Prélèvement après quinze jours de régime alcalinisant

Prélèvement N°	Sujet N°	Glucose	Lévulose	Galactose	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Maltose	Lactose	Sorbitol	Saccharose	Raffinose	Adonite	Dulcite	Salicine
I	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
II	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+
III	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+
IV	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+
V	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	2	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
	3	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—

INTERPRÉTATION

De ces recherches, nous pouvons conclure avec LEINBROCK (85) que les cinquante souches d'*Escherichia coli* isolées des matières fécales de cinq sujets apparemment sains ont dégradé d'une façon identique le glucose, le lévulose, le galactose, l'arabinose, le xylose, le rhamnose, le maltose, le lactose et le sorbitol.

Ainsi, on se rend compte que ces cinquante souches doivent être considérées comme des *Escherichia coli* typiques, fermentant le lactose avec production de gaz.

Le protocole expérimental prenant en considération d'autres glucides : saccharose, raffinose, adonite, dulcite, salicine, montre cependant une certaine divergence dans leur pouvoir enzymatique respectif.

Cette différence se fait aussi remarquer dans leur comportement sur les deux milieux d'épreuve : en effet, on sait que sur le milieu d'Endo, on peut différencier des colonies à aspect rugueux, opaques et donnant avec la Fuch sine un reflet brillant ; d'autres colonies à aspect lisse, transparent et ne faisant pas virer la Fuch sine. Les premiers caractères sont spécifiques des *Colibacilles* à forte vitalité, alors que les seconds correspondent à des souches plus ou moins atypiques. La même différenciation peut être obtenue au moyen du milieu au rouge phénol-vert brillant.

Ces essais nous ont permis de constater que toutes les souches isolées des premiers prélèvements étaient douées d'une bonne vitalité, alors qu'après quinze jours de régime végétarien, les prélèvements ont donné les résultats suivants : (voir tableau n° 8).

Ces résultats permettent de constater que les changements du système enzymatique entraînent un changement de la vitalité des *Colibacilles*. Ce fait peut s'expliquer par la modification fréquente de la structure antigénique et de la mutation lysogénétique des différentes souches d'*Escherichia coli* dans certaines conditions physiques et nutritionnelles, comme nous l'avons exposé dans la partie historique de notre travail.

Revenons à présent à l'examen des tableaux 6 et 7, où nous avons constaté :

1. Qu'avant le régime végétarien, les *Escherichia coli* ont attaqué, en plus des huit glucides spécifiques, dans les deux premiers prélèvements, le dulcite ; dans le troisième prélèvement, le dulcite et la salicine ; dans le quatrième prélèvement, la salicine seule ; dans le cinquième prélèvement nous avons trois souches incapables d'utiliser la salicine, dont deux ne dégradent pas non plus la dulcite. Les colonies du sujet n° 1 (prélèvement n° V) utilisent ces deux glucides alors que celles du sujet n° 5 ne dégradent que la salicine.

Dans l'ensemble, on peut constater que toutes les souches attaquent spécifiquement un certain nombre d'hydrates de carbone, de sorte que leur qualité de *Colibacilles* est indubitable, pour autant que les propriétés enzymatiques soient valables pour cette caractérisation. Ce résultat est d'ailleurs confirmé par la culture sur les milieux d'épreuve d'Endo et au Rouge phénol-vert brillant.

TABLEAU N° 8

Etude de la vitalité des Escherichia coli par le changement de régime

Prélèvement N°	Sujet N°	Culture sur milieu	
		Endo	Rouge phénol-vert brillant
I	1	Atypique	Atypique
	2	Typique	Typique
	3	Atypique	Atypique
	4	Typique	Typique
	5	Typique	Typique
II	1	Typique	Typique
	2	Typique	Typique
	3	Atypique	Atypique
	4	Atypique	Atypique
	5	Atypique	Atypique
III	1	Atypique	Atypique
	2	Atypique	Atypique
	3	Atypique	Atypique
	4	Atypique	Atypique
	5	Atypique	Atypique
IV	1	Typique	Typique
	2	Atypique	Atypique
	3	Atypique	Atypique
	4	Atypique	Atypique
	5	Atypique	Atypique
V	1	Atypique	Atypique
	2	Typique	Typique
	3	Typique	Typique
	4	Atypique	Atypique
	5	Atypique	Atypique

2. Qu'après le régime végétarien, les examens effectués quinze jours plus tard (tableau n° 7) montrent une certaine involution de la flore des *Coli-formes fécaux*, probablement due à la modification du régime alimentaire, à la concentration en ions H de l'intestin et au changement nutritionnel du terrain qui en résulte. Cependant, ce changement ne se manifeste en général que vis-à-vis des trois glucides suivants : *dulcité, salicine et galactose*. Ainsi, lors du premier prélèvement, nous trouvons trois souches capables de dégrader la salicine, alors qu'une a perdu son pouvoir enzymatique sur la dulcité. Chez les *Escherichia* des prélèvements II, III et IV, on note comme autre caractère différentiel leur pouvoir fermentatif vis-à-vis du saccharose, du raffinose et de l'adonite, mais cette irrégularité ne se manifeste que pour l'un ou l'autre des sujets. Ainsi, on remarque par exemple pour le *prélèvement* II, deux sujets à colonies attaquant le dulcité et la salicine et trois autres n'attaquant plus le dulcité, mais assimilant l'adonite et la salicine.

Ces souches ont donc acquis un pouvoir enzymatique adaptif vis-à-vis de certains glucides non spécifiques et ces irrégularités se manifestent chez les colonies d'*Escherichia* provenant d'un même sujet, ce qui prouve qu'il s'agit de simples variantes d'une même souche. D'autre part, en considérant le cinquième prélèvement, on constate l'acquisition du pouvoir enzymatique vis-à-vis du saccharose et du raffinose chez le deuxième sujet ; vis-à-vis du raffinose seul chez le cinquième sujet et la perte de dégradation du galactose chez les sujets n° 2 et 3.

Ces faits peuvent trouver leur explication également dans l'influence des modifications antigéniques et lysogénétiques.

LEINBROCK (85) a déjà déduit de ses observations que ces variantes d'*Escherichia coli* constituent des Phénotypes d'une souche génotype initiale et BAUMGAERTEL (12) a pu confirmer cette conception par ses expériences. Ce dernier, émet l'opinion que ces variantes d'*Escherichia coli* doivent se produire également « *in vivo* » dans l'intestin par suite d'une adaptation de la flore coliforme à l'intestin de l'individu en rapport avec un régime alimentaire ou médicamenteux suffisamment actif ou prolongé (antibiotiques par exemple). HALLMANN (81) a désigné ce phénomène par le terme de « *variabilité endogène* ».

On peut ainsi comprendre qu'à la suite de processus thérapeutiques ou pathologiques intestinaux, tels que le régime alimentaire, la concentration ionique, puis dans les entérites, colites, diarrhées, etc., surtout accompagnés de production massive de mucus, les *Escherichia coli* idiogènes doivent subir une involution endogène pouvant donner lieu à l'apparition de *Coli-bacilles atypiques* ne fermentant plus le lactose et désignés actuellement sous le terme de « *flore paracoli, coliforme ou classés dans les groupes : Arizona, Providencia, Ballerup, Bethesda et Hafnia* ».

En nous basant sur ces observations, nous avons entrepris des essais de bactériothérapie.

CHAPITRE VI

ESSAIS DE BACTÉRIOTHÉRAPIE BUCCALE AVEC ESCHERICHIA COLI

La possibilité d'involution des *Colibacilles* vers des formes atypiques a incité certains auteurs à instaurer une bactériothérapie par voie buccale chez les malades atteints de troubles gastro-intestinaux. NISSLE (11) le premier, a appliqué un traitement antagoniste des dérèglements intestinaux chroniques par les *Colibacilles*. Pour l'Histoire détaillée de ces traitements, nous renvoyons au travail de LIGNY (86). Nous voudrions cependant insister sur les essais de ROLLE et BURGER (87) qui ont contrôlé la fixation éventuelle d'un sérotype de *Colibacille* dans l'intestin de l'homme et du lapin normal. Cette souche, administrée par voie orale, disparaît en deux à sept jours et il faut un traitement continu de deux à trois semaines pour l'implanter d'une façon plus durable.

Pour nos expériences, nous avons choisi la souche V 2 de la deuxième série d'expériences qui, biochimiquement est caractérisée par son pouvoir enzymatique spécial vis-à-vis du galactose, du saccharose, du lactose, de la dulcité et de la salicine. Sa vitalité a été prouvée par son comportement sur les deux milieux d'épreuve. Par repiquages successifs, nous avons fixé les caractères typiques de cette souche, puis nous l'avons rendue résistante à la Kanamycine par introduction de doses progressivement croissantes de 0,1 γ /ml à 100 γ /ml dans le milieu de culture. Nous avons eu recours à la Kanamycine pour les raisons suivantes :

Il s'agit d'un antibiotique inhibant la croissance des bactéries Gram + et Gram —, tels que les *Staphylocoques*, *Méningocoques*, *Escherichia* et *Salmonella*. Elle est surtout employée en clinique pour la désinfection du tube digestif. Cet antibiotique est nettement moins toxique pour l'homme que la *Streptomycine* et ses dérivés.

La Kanamycine est un antibiotique à taux d'élimination fécale élevé. LIGNY et VIGNIE (86) ont montré l'agression de la flore intestinale normale par les antibiotiques parmi lesquels la Kanamycine diminue peu la résistance des individus traités vis-à-vis de diverses agressions microbiennes.

elle est donc peu toxique, à condition de ne pas dépasser la dose totale de 50 g et la dose quotidienne de 1 g pour éviter l'auto-toxicité de cet antibiotique et ses effets d'altérations cochléaires.

Elle est d'un usage beaucoup plus restreint dans la *thérapeutique humaine*, de sorte que la mise en évidence de son degré de sensibilité pour une bactérie ait un caractère plus spécifique que celui d'un antibiotique couramment employé, tel que la *Pénicilline*, la *Streptomycine* et le *Chloramphénicol* par exemple.

Des souches d'*Escherichia* insensibles à des doses dépassant 20 γ /ml de *Kanamycine* doivent donc être très rares dans les matières fécales et ce caractère doit pouvoir servir à détecter un *Escherichia coli* introduit par voie exogène dans l'organisme humain par la *bactériothérapie*.

Quoiqu'il en soit, aucune de nos autres souches ne présentait les caractères de ce sérotype et la probabilité de l'existence naturelle dans l'intestin d'un *Escherichia* ayant ces propriétés, nous semble réduite.

La suspension bactérienne est préparée de la façon suivante : on cultive la souche du *Colibacille* sur le milieu de *Pesch gélosé* ; après vingt-quatre heures, on fait un prélèvement aseptique que l'on introduit dans un ballon stérile. On dilue avec de l'eau distillée stérile pour obtenir une concentration microbienne d'environ cinq millions de germes par mm³. D'autre part, nous avons préparé un support liquide constitué par de l'acide glutamique, de l'extract aminé de levure, du sucre et de l'eau. Au moment de l'emploi, on mélange 5 ml de culture à 5 ml de support liquide pour obtenir une concentration d'environ vingt-cinq millions de germes pour 10 ml.

Les sujets soumis à l'expérience ont d'abord reçu pendant quinze jours un régime carné mixte, puis également pendant deux semaines un régime végétarien ; nous leur avons ensuite fait ingérer la suspension bactérienne le matin à jeun et le soir au coucher.

Nous avons pratiqué un premier prélèvement de selles vingt-quatre heures après cette première application de la suspension bactérienne. Cette thérapie a été ensuite poursuivie pendant trois semaines avec prélèvement des fecès toutes les vingt-quatre heures pendant quatre jours, puis après dix, quinze, vingt-cinq, quarante et soixante jours. Les trois derniers examens avaient donc lieu quatre, vingt et quarante jours après l'interruption du traitement.

Pour la recherche de notre sérotype d'*Escherichia* V 2, un gramme de selles fraîchement émises était mis en suspension dans 10 ml de soluté physiologique, agité pendant dix minutes, puis soumis à une série de dilutions. Ces dilutions ont été ensemencées à raison de 0.1 ml sur plaque d'*Endo* et de *Rouge phénol-vert brillant*, additionné de 100 γ /ml de *Kanamycine*.

Les colonies de notre sérotype apparaissent incolores, rugueuses, opaques sur les deux milieux, tandis que la plupart des autres germes de la flore intestinale normale sont inhibés par la *Kanamycine* ou présentent des caractères macromorphologiques qui permettent facilement leur indifférenciation avec notre souche.

Ces colonies spécifiques sont ensuite réensemencées sur gélose ordinaire, disposées à 37 °C pendant vingt-quatre heures, puis on les caractérise en les repiquant dans les différents milieux glucidiques que nous avons employés pour l'identification des *Escherichia*. Nous donnons dans les tableaux suivants, les résultats de cette expérience, en indiquant les taux d'*Escherichia coli* naturels et de notre sérotype V 2 par gramme de matière fécale.

TABLEAU N° 9

Prélèvement N°	Sujet N°	Nombre d' <i>Escherichia coli</i> normaux en millions/gramme après N jours								
		0	1	2	4	10	15	20	40	60
I	1	118	130	144	152	130	110	86	48	97
	2	70	49	42	40	62	87	92	62	37
	3	99	128	138	146	130	112	92	71	84
	4	56	46	32	30	38	50	57	48	24
	5	130	95	76	58	84	120	108	87	62
II	1	138	114	92	80	118	110	94	63	50
	2	84	65	56	42	69	75	97	59	38
	3	153	185	204	244	192	144	103	52	96
	4	173	222	258	292	256	186	115	64	110
	5	93	134	164	205	145	87	81	45	87
III	1	328	295	205	256	269	254	286	180	206
	2	344	190	274	170	300	341	347	167	197
	3	284	294	380	396	325	257	196	105	195
	4	353	106	282	256	312	315	304	242	186
	5	177	190	335	342	284	256	182	91	210
IV	1	322	288	215	205	263	257	241	175	182
	2	390	398	436	455	408	305	206	94	218
	3	269	260	202	194	215	202	187	150	192
	4	330	394	475	498	386	295	146	72	227
	5	349	305	248	245	310	326	252	145	195
V	1	63	98	157	165	104	68	46	34	67
	2	67	42	24	22	69	58	72	46	28
	3	52	45	28	22	33	39	64	38	28
	4	70	104	170	216	127	82	68	32	74
	5	59	66	121	132	85	64	49	29	60

TABLEAU N° 10

Prélèvement N°	Sujet N°	Nombre d' <i>Escherichia coli</i> sérotype V-2 en millions/gramme après N jours								
		0	1	2	4	10	15	20	40	60
I	1	—	—	0,06	50	54	66	58	4	—
	2	—	—	0,75	10	12	34	26	—	—
	3	—	—	0,09	14	62	68	52	10	2
	4	—	—	0,53	22	30	51	40	1	—
	5	—	—	0,53	15	16	30	18	—	—
II	1	—	—	0,28	19	26	34	25	3	—
	2	—	—	0,36	18	19	48	37	5	—
	3	—	—	0,07	55	64	72	60	11	1
	4	—	—	0,06	88	96	104	98	1	—
	5	—	—	0,04	73	65	62	54	6	—
III	1	—	0,5	1,73	90	114	116	100	—	—
	2	—	0,4	1,92	98	122	140	94	—	—
	3	—	—	0,05	56	136	135	90	7	—
	4	—	0,1	1,26	107	115	110	81	—	—
	5	—	—	0,07	84	118	110	84	8	1,2
IV	1	—	0,8	1,82	79	87	82	66	—	—
	2	—	—	0,04	126	143	159	112	12	0,1
	3	—	—	0,76	82	118	103	90	2	—
	4	—	—	0,05	115	121	140	96	14	1,3
	5	—	—	1,0	67	106	92	65	3	—
V	1	—	—	0,66	53	64	47	33	3	—
	2	2,5	4,2	10,30	19	16	4	14	—	—
	3	—	—	0,72	16	16	13	15	8	—
	4	—	—	0,13	65	82	61	46	12	1,4
	5	—	—	0,10	37	41	40	27	1,5	—

INTERPRÉTATION

En considérant ces résultats selon leur valeur intrinsèque, on arrive à une conception plutôt décevante, telle qu'elle a été formulée par la plupart des chercheurs antérieurs. KUMPER (88), par exemple, a constaté que la diversité de la *constitution antigénique et lysogénique des Escherichia* ne permet pas toujours de compter sur l'efficacité de la *Bactériothérapie par voie buccale*. Comme on peut induire « *in vitro* » des *mutations de types colibacillaires* en cultivant une forme rugueuse d'un certain type en présence de germes S tués d'un autre type, on pourrait penser que des phénomènes analogues doivent se dérouler dans la flore complexe intestinale entre les *Entérobactéries d'espèces différentes*.

De telles recombinaisons antigéniques seraient cependant plus ou moins aléatoires « *in vivo* ». D'autre part, les vaccins bactériophagiques sont loin d'être assez polyvalents pour lyser toutes les souches d'*Escherichia* et l'auteur a trouvé très souvent ces vaccins phagiques inactifs vis-à-vis des *Colibacilles* isolés des selles de sujets traités. Cependant le principe de la *bactériophagothérapie* se comprend mieux d'après KUMPER que la *vaccinothérapie buccale*.

Quant à nos expériences, il ressort des résultats exprimés dans les tableaux 9 et 10 que l'ingestion de la suspension de notre *Escherichia serotype V-2* s'extériorise chez certains sujets par une augmentation rapide de la flore normale d'*Escherichia*, chez certains autres par une diminution aussi spectaculaire, de sorte qu'il semble à première vue impossible de tirer une conclusion valable d'une telle expérience. Un fait cependant qui se dégage des résultats du tableau n° 9 est la baisse uniforme de la coliflore vers le quarantième jour de l'expérience, alors que nous constatons le soixantième jour, chez les uns une nouvelle augmentation et chez les autres une diminution.

En ce qui concerne les résultats globaux du tableau n° 10, relatifs à la numérotation du sérotype V-2 dans les selles de nos sujets, on voit que ce germe apparaît chez certains dès le premier jour, mais sa présence n'est générale chez tous les sujets qu'à partir du deuxième jour de l'absorption de la *Coli-suspension*. Entre les quatrième et quinzième jours, les valeurs sont à nouveau très variables, puis le vingt-cinquième jour, on constate une nette raréfaction de la souche V-2 et le quarantième jour sa présence devient exceptionnelle.

L'interprétation de l'action de ce traitement oral au moyen du sérotype V-2 vivant, prend cependant une signification toute particulière, si l'on compare le résultat numérique des tableaux 9 et 10 avec les données biochimiques de la coliflore de nos sujets, telles qu'elles ressortent du tableau n° 7.

On remarque que toutes les souches à propriétés biochimiques stables, dans les *Colibacilles typiques*, n'assimilant que les huit glucides spécifiques, augmentent progressivement dans les selles pendant les quatre premiers jours du traitement vaccinal (cas prélèvement I, sujets n°s 1 et 3) ; à partir du dixième jour jusqu'au quarantième jour, nous assistons à une baisse progressive du taux des *Coliformes* et soixante jours après le début du traitement celui-ci a tendance à se rapprocher de sa valeur initiale, de sorte qu'on constate une rééquilibration de la Coliflore intestinale.

Par contre, si l'on envisage les cas possédant normalement une flore fécale composée d'*Escherichia* plus ou moins impliqués, on constate que sous l'influence de l'ingestion de la *Coli-suspension sérotype V-2*, la Coliflore diminue pendant les quatre premiers jours du traitement, pour augmenter le dixième jour et atteindre le taux optimal le vingt-cinquième jour ; puis à partir du quarantième jour on assiste à une nette raréfaction de la Coliflore intestinale.

L'évolution du taux fécal du sérotype V-2 est sensiblement parallèle chez ces deux catégories de sujets. Nous croyons pouvoir expliquer ces faits

comme l'ont fait BAUMGAERTEL (12), RAMON (89) et BOIVIN (23) en ayant recours à un *processus immunologique intestinal*, se manifestant dans les vingt et un jours du traitement par voie buccale. A ce moment, *l'immunité des muqueuses intestinales* fait disparaître en premier lieu le *sérotype vaccinal* ainsi que les autres souches apparentées. A partir du vingt-cinquième jour, cette immunité exerce son influence sur *l'ensemble de la flore d'Escherichia coli*, même sur ceux à caractères biochimiques stables. Cependant, tandis que la *souche vaccinale* disparaît définitivement des selles, probablement par suite de la présence d'*anticorps antisérotypes V-2 « in situ »*, la *flore d'Escherichia normale* tend à retrouver son taux initial.

D'après nos observations, la nouvelle flore intestinale est constituée, en grande partie, d'*Escherichia à caractère stable et typique*, mélangée partiellement et en faible proportion de mutants.

Notre conception rejoint les résultats, récemment publiés, de FREDER et CANCAROSA (90), prouvant l'élimination d'*anticorps anticholériques dans les matières fécales*, après immunisation par voie buccale poursuivie pendant quatre semaines.

L'ensemble de ces recherches confirme l'opinion émise par BAUMGAERTEL (12), en 1954 déjà :

« Dans l'intestin sain, les nombreux millions de *Colibacilles* à fonction biologique intégrale, produisent une immunisation entérale, dans le sens d'une symbiose immunologique équilibrée, par leurs propriétés métaboliques spécifiques et leurs propriétés antigéniques, expérimentalement prouvées. Par contre, cette harmonie est troublée dans les cas d'irritation pathologique des muqueuses intestinales amenant une *involution de Colibacilles normaux vers les Paracoli*. Par ce processus, la Coliflore intestinale idiogène subit une modification de la fonction biologique. Le pouvoir antagoniste naturel de la *Coliflore symbiote* est diminué et *l'immunisation entéro-bactérienne se poursuit à présent également par la flore paracoli*, pouvant être révélée par une réaction sous-cutanée positive vis-à-vis des *paracoli*. »

Nous voyons ainsi que *l'implantation de Colibacilles hétérogènes par une bactériothérapie buccale* n'est possible que par une administration prolongée et que ce traitement se justifie par son effet immunologique amenant une rééquilibration de la flore intestinale.

Les phénomènes de raréfaction de la *coliflore typique*, constatés à partir du dixième jour de notre thérapie, orientent notre attention vers un autre processus immunologique : *l'action des principes adjuvants* découverts par RAMON (89) et ses élèves entre 1925 et 1935. Depuis lors, beaucoup de progrès ont été faits à ce sujet et nous connaissons actuellement *l'effet stimulant de la production d'anticorps* quantitatifs et immédiats ou qualitatifs et prolongés dans le temps, *par des adjuvants absorbants inertes* de RAMON, *par des adjuvants du type de FREUND* et *par ceux d'origine microbienne lipopolysaccharidique* (BOIVIN [23]). Ces derniers sont principalement des *endotoxines bactériennes* (JOHNSON, CAINES et LANDY [91], FINGER [92]).

Or, la *bactériolyse des Escherichia*, consécutive à *l'ingestion du sérotype V-2* doit occasionner une mise en liberté massive des *endotoxines colibacil-*

lares au niveau des muqueuses intestinales, engendrant une production accrue d'anticorps. Nous savons que *ces endotoxines lipopolysaccharidiques agissent en association avec l'antigène sur le système réticulo-endothélial et le complexe adjuvant-antigène provoque une mobilisation de phagocytes. Ceux-ci, potentialisent, par la persistance de l'effet antigénique, la cyto et bactériolyse intestinale et macrophagique.* Ainsi, on assiste à la libération des particules ribonucléiques, qui contribuent à une orientation chromosomique des souches d'*Escherichia coli* vers une structure antigénique et lysogénétique, physiologiquement normale. D'autre part, l'organisme peut utiliser ce matériel ribonucléique libéré pour la synthèse maximale d'anticorps spécifiques, qui contribuent à la restauration « *in situ* » de l'équilibre de la flore intestinale symbiotique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Notre travail avait pour but d'apporter *une contribution à l'étude de la composition qualitative et quantitative de la flore intestinale de l'homme. A ce sujet, nous avons envisagé la flore normale du tube digestif humain et ses dérèglements pathologiques.*

Nous avons tout d'abord envisagé *la physiologie du tube digestif normal et sa flore bactérienne* ; nous avons pu voir que l'on trouve dans chaque région du tube digestif des espèces microbiennes nettement définies, adaptées et localisées à ce domaine. Nous insistons particulièrement sur le rôle biologique de cette flore bactérienne pour l'équilibre du fonctionnement de l'intestin et de ses annexes.

Parmi la flore microbienne physiologiquement obligatoire, *le Colibacille* occupe une place particulière, de par *son pouvoir enzymatique et vitamino-gène.*

Nous avons vu que la conception d'ESCHERICH quant à l'existence de souches de *Colibacilles strictement individuelles* est devenue caduque par la publication de travaux plus récents qui ont montré que chaque sujet possède *plusieurs Colibacilles de types différents*, que dans un temps relativement court, *la flore intestinale se renouvelle* du tout au tout, que la variabilité de cette flore est très grande d'un sujet à l'autre, mais cette flore présente des analogies chez les sujets vivant au contact les uns des autres.

Au cours des *troubles intestinaux non spécifiques*, pouvant être d'origine alimentaire, fonctionnelle, toxique, nerveuse ou hormonale, *l'harmonie naturelle* entre les différentes espèces de la flore intestinale est plus ou moins détruite et ces modifications peuvent être la cause directe de troubles pathologiques connus en clinique par leur symptomatologie de *gastro-entérite, d'entérocólite, de colite, de constipation, etc.*

On comprend donc facilement que *ces affections intestinales non spécifiques* ne répondent que difficilement aux différents traitements et ne cèdent pas aux médicaments modernes tels que *les sulfamides ou les antibiotiques.*

Nous passons ensuite en revue *les infections colibacillaires de l'appareil urinaire* et leur thérapeutique, ce qui nous a permis de constater que *le Colibacille* intervient seulement secondairement dans les états pathologiques

urinaires, là où existe déjà un trouble, une lésion, une malformation ou encore une autre infection. Nous reviendrons ultérieurement sur le rapport entre ces *Colibacilles urinaires* et la *flore intestinale*.

A la lumière des conceptions actuelles sur la *flore intestinale*, nous avons jugé intéressant d'étudier celle-ci chez des sujets sains et chez des sujets ayant été soumis à un régime alimentaire strictement végétarien.

Dans ce but, nous avons eu recours à des techniques spéciales microscopiques et culturales, en insistant sur leurs avantages et inconvénients.

Grâce à ces techniques, nous avons ensuite entrepris l'étude du comportement de la *flore intestinale normale* et de l'importance de la *Coliflore* dans le fonctionnement du tube digestif. Ceci étant le but essentiel de notre travail, il nous a paru utile de donner une vue d'ensemble de la *lysotypie* et *lysogénie*, processus qui ont semblé nécessaire à l'explication des phénomènes de mutation que nous avons observés.

Nous avons effectué ces expériences surtout par suite de la controverse entre l'ancienne école et certains spécialistes d'aujourd'hui au sujet du rapport entre *flore rouge* et *flore bleue*, ainsi qu'entre *aérobies* et *anaérobies*. On sait, en effet, que STRASBURGER, BESREDKA, GOIFFON situaient le rapport *flore rouge*

à environ 7/3 et considéraient la *coliflore* du tube digestif sain *flore bleue*

comme la plus importante, au point de vue qualitatif et quantitatif, dans les processus physiologiques. Cette conception est encore partagée par NISSE, BAUMGAERTEL et FASQUELLE, elle est par contre réfutée par SEELIGER et ses collaborateurs dans leurs récents travaux. Cet auteur écrit en effet : « En ce qui concerne les selles d'adultes, nos analyses bactériologiques ont confirmé l'opinion d'ORLA-JENSEN, de BOVENDER et de HAENEL, selon laquelle la pullulation des autres germes ne fait pas disparaître les *Bifidobactéries* qui tiennent encore une place importante. Ceci est démontré, non seulement par les nombres absolus, mais aussi par les proportions relatives des *Bifidobactéries* et des autres germes. »

Parmi les autres germes, les *Anaérobies Gram* — ont une prépondérance marquée. Après les *Bifidobactéries*, et en nombre presque toujours inférieur, les cultures à partir de selles d'adultes donnent de façon inconstante des *Staphylocoques*, des *Streptocoques* et des *Lactobacilles*. Les *Bifidobactéries* persistent donc au milieu d'un nombre croissant d'espèces où dominent les *Anaérobies Gram* —.

Nos résultats confirment la persistance des *Bifidobactéries*, mais le nombre des *Anaérobies Gram* — ne dépasse pas celui des *Aérobies Gram* —, lesquelles sont représentées en majeure partie par des *Coliformes*. SEELIGER et ses élèves comptent les *Escherichia* aussi bien dans les cultures en aérobiose qu'en anaérobiose ; en effet, selon eux, la culture en anaérobiose est indispensable pour une estimation quantitative correcte des *Coliformes* et ils concluent qu'« il est impossible de maintenir le concept ancien de la prépondérance obligatoire des *Coliformes* dans les selles des adultes. Ces *Coliformes* n'y représentent que 10 % au maximum des bactéries Gram — ».

D'autre part, ils estiment que la prépondérance des *Anaérobies Gram* — sur les *Escherichia* se chiffre par un rapport de $10^9/10^8$ par gramme.

Il est possible aujourd'hui de cultiver la plupart des microbes fécaux et d'identifier les germes et les espèces les plus importantes. Nos résultats ont montré que dans les cultures en aérobiose on trouve en moyenne 58 à 59 % de *Coliformes* et dans les cultures en anaérobiose les germes Gram — s'établissent à environ 17 à 18 %, parmi lesquels doivent se ranger les *Bactéroïdes melaninogenicus* (*Ristella* de la classification de PRÉVOT) de ZUBRZYCKI et SPAULDING. Les autres bactéries anaérobies sont toutes Gram+ et se répartissent entre les *Bifidobactéries*, les *Caténabactéries*, les bactéries sporulées et les *Coques* qui représentent également environ 17 % de la flore anaérobie totale. On voit donc que la flore du tube digestif physiologiquement normal contient un fort pourcentage d'*Escherichia coli*.

Dans un but thérapeutique ou de recherche scientifique, on a souvent essayé de modifier la flore intestinale de l'homme ; pour cela, trois moyens principaux sont utilisables : le régime alimentaire, l'ingestion de germes vivants et l'emploi de médicaments antimicrobiens. Pour nos recherches, nous avons eu recours au régime alimentaire et à l'administration de germes vivants. Pour contrôler l'efficacité de ces traitements nous avons tout d'abord essayé de caractériser la *Coliflore* par ses propriétés biochimiques spécifiques ou atypiques par suite de leur action vis-à-vis d'un grand nombre de glucides. D'autre part, nous avons contrôlé la vitalité des germes isolés par leur résistance des milieux d'épreuve contenant respectivement de la *Fuchsine* et du *Rouge phénol-vert brillant*.

Nous avons ainsi isolé un sérotype caractérisé par son pouvoir enzymatique spécial vis-à-vis du saccharose, du lactose, du dulcité et de la salicine. Par repiquages successifs, nous avons fixé les caractères génétiques de cette souche, puis nous l'avons rendue résistante à la *Kanamycine*. Ce germe a été utilisé pour la bactériothérapie par voie buccale et nous avons ainsi pu suivre son comportement et sa survie dans l'intestin par une numération poursuivie pendant soixante jours.

Sa présence dans les matières fécales est générale chez tous les sujets à partir du deuxième jour de l'absorption de la *coli-suspension* ; entre le quatrième et le quinzième jour, les valeurs sont très variables d'un sujet à l'autre, puis le vingt-cinquième jour, on constate une nette raréfaction de notre souche sérotype V-2 et à partir du quarantième jour, sa présence devient exceptionnelle. Sous l'effet de cette bactériothérapie, nous avons constaté que toutes les souches à propriétés biochimiques stables et typiques augmentent progressivement dans les selles pendant les quatre premiers jours du traitement.

A partir du dixième jour et jusqu'au quarantième, nous assistons à une baisse progressive du taux des *Coliformes* et soixante jours après le début du traitement celui-ci a tendance à se rapprocher de son taux initial, de sorte qu'on constate une rééquilibration de la *Coliflore intestinale*.

Par contre, chez les sujets possédant des *Escherichia* plus ou moins involués, la bactériothérapie occasionne une diminution de la *Coliflore* pendant

les quatre premiers jours, pour augmenter ensuite et atteindre un taux optimal le vingt-cinquième jour ; puis, à partir du quarantième jour, on assiste à une nette raréfaction de la *Coliflore intestinale*.

L'évolution du taux fécal de *notre sérotype V-2* a été sensiblement parallèle chez les deux catégories de sujets. Nous croyons pouvoir expliquer ce fait par un *processus immunologique intestinal*, se manifestant dans les vingt et un jours du traitement par voie buccale. A ce moment, l'immunité des muqueuses intestinales fait disparaître définitivement les germes de la *coli-suspension* employée et la flore d'*Escherichia normale* tend à retrouver son taux initial. Il s'agit donc d'un *processus d'immunisation locale* et à ce point de vue nous pouvons rejoindre la conception de SEELIGER selon laquelle « la colonisation de l'intestin par les bactéries dites intestinales est dans les conditions naturelles un événement inévitable dont l'un des avantages est une stimulation constante de la production d'anticorps ».

Si l'on ne peut attribuer une valeur symbiotique réelle à la flore bactérienne fécale vis-à-vis du macro-organisme hôte, il est certain que l'implantation d'*Escherichia* à caractères nettement définis et à grande vitalité, incite le macro-organisme à élaborer des *γ-globulines* et des *anticorps* qui interviennent pour enrayer les troubles pathologiques aspécifiques. Il est cependant impossible de tirer des conclusions formelles quant à l'origine et l'évolution clinique d'une affection intestinale en se basant uniquement sur les *phénomènes de dysbactériose*. Nous savons, par exemple, que l'abondance d'une flore de *Lactobacilles* est caractéristique d'une *dyspepsie enzymatique acide* et celle d'une flore de *Paracoli* et de *Protéus* indique une *entérite putride*. Le plus souvent, le problème n'est cependant pas aussi simple, puisqu'on a à faire à plusieurs processus cliniques et analytiques qui peuvent s'imbriquer ou alterner. Les *troubles gastro-intestinaux atypiques*, c'est-à-dire les *gastro-entérites*, les *colites*, la *constipation*, la *diarrhée*, etc., avec leurs sytômes physiologiques de *météorisme*, *flatulence*, *spasmes intestinaux*, *eczéma*, *migraine*, *douleurs rhumatoïdes*, ne sont pas imputables directement à la flore microbienne, mais sont en première ligne dus à des causes alimentaires ou fonctionnelles, nerveuses, toxiques, endocriniennes ou à des insuffisances en vitamines. C'est seulement à la suite de *ces accidents primaires* que la flore microbienne intestinale involue et devient pathologique ; elle peut être caractéristique, mais ne peut constituer un symptôme spécifique de l'un ou l'autre de ces *troubles gastro-intestinaux atypiques*.

Ainsi, il est facilement compréhensible que par exemple lors d'une *hypocacidité gastrique*, les germes du groupe *Coli-Aérogènes* émigrent vers l'intestin grêle et occasionnent des *dyspepsies enzymatiques ou putrides*. Cette affection du grêle se répercute ensuite sur le gros intestin et donne les symptômes cliniques d'une *entérocolite muco-membraneuse*. Dans le mucus, sécrété par la muqueuse irritée, le *Colibacille* involue vers des formes de *Paracoli atypiques*. On voit ainsi que ce n'est pas la *flore Paracoli* qui est la cause primaire des troubles pathologiques, mais qu'elle réside dans la sécrétion anormale de la muqueuse intestinale. C'est ainsi que nous rejoignons la conception actuelle de MASCHAS et de la plupart des *urologues* rapportée dans notre travail, sur les *colibacilloses urinaires*, où nous avons

vu que les *Coliformes* interviennent seulement secondairement là où il existait déjà un trouble, une lésion, une malformation ou encore une autre infection microbienne.

Nos expériences ayant prouvé l'efficacité de la bactériothérapie par voie buccale au moyen d'un *Escherichia* spécifique à grande vitalité dans les troubles atypiques gastro-intestinaux, nous croyons pouvoir en déduire que cette bactériothérapie, en stimulant les processus immunologiques, peut également influencer favorablement sur les colibacillooses urinaires aiguës.

BIBLIOGRAPHIE

- (2) ACHARD. — *Compte R. Soc. Biologie* 1888, 53, p. 210 et 1897, 62, p. 198.
- (3) ALBARRAN. — *Handbuch der pathologischen Mikroorganismen*, Kolle-Wassermann, 1913, 2^e édition, Iena, p. 510.
- (73) AVERY, Mac LEOD et Mac CARTY. — Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation et pneumococcal types *Journ. exp. Med.*, 1944, 79, 137 à 158.
- (12) BAUMGAERTEL T. — *Klinische Darmbakteriologie*, Thieme, Stuttgart, 1954.
- (69) BAWDEN F. C. et PIRIE N. W. — Virus multiplication considered as a form of protein synthesis. The nature of Virus Multipli. 2^e Symp. Soc. Gen. Microbiol. Cambridge Univ. Press. 1953, p. 21.
- (74) BEADLE et TATUM. — Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1941, 27, 499-506.
- (61) BENZER et collaborateurs. — Voir Jacob, p. 166.
- (84) BERGEY. — *Manuel of Determination Bacteriology*, New-York, 1948.
- (75) BESREDKA. — *Immunisation locale*, Masson, Paris, 1925.
- (67) DE BLASI et BUOGO. — *Boll. Soc. Microb. Sez. Ital.*, 1952, 24, 163.
- (23) BOIVIN. — *Eléments de Bactériologie*, 1948, p. 150.
- (8) BOIVIN et CORRE. — *Revue d'Immunologie*, 1942, 7, 97.
- (70) BOZEMAN F. M., WISSEMAN et HOPPS. — Inhibition of intracellular Multiplication. *Journ. Bact.*, 1954, 67, 530.
- (25) BUTTIAUX. — *L'Analyse bactériologique des eaux de consommation*, Paris, 1951, Ed. Méd. Flammarion.
- (38) CALMETTE, BOQUET et NEGRE. — *Manuel technique de Microbiologie*, Paris, Masson, 1933.
- (20) CAVALLI et SFORZA. — Polygenic inheritance of drug-resistance in the bacterium *E. Coli* Heredity, 6, 311-331 ;
Chemical basis of heredity (A symposium on the) 1957, Edité par Mac Elroy, B. Glass ;
The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- (48) CHABBERT. — Analyse bactériologique des complexes de Colicines produits par 14 souches d'*Es. coli* traités aux antibiotiques. *Ann. Inst. Past.*, 1950, 79, 51.
- (80) CHIRAY, LARDENNOIS et BAUMAN. — Voir Goiffon : *Manuel de Coprologie clinique*, Masson, 1942, p. 231.
- (5) CLEMENT, MARIE, LE MINOR et collaborateurs. — *Presse Médicale*, 1953, 61, 1.
- (63) CRAIGIE L. et YEN C. H. — *Canad. J. Publi. Health*, 1938, 29, 448 et 484.
- (58) DENEREC et FANO. — Bactériophage-résistant mutants d'un *E. Coli*, *Genetics*, 30, 119-136.

- (54) D'HERELLE F. — Précis de Bactériologie médicale par Pierre GASTINEL, 1917, p. 1139, Masson, Paris, 1957.
Le bactériophage et son comportement, Masson, Paris, 1926.
- (32) DIENERT et ETRILLART. — Bulletin des Travaux. Soc. Pharm. Bordeaux, 1932, T 3.
- (37) DIENERT, GUILLARD et LEGUEN. — Réaction pour le Coli dans l'eau. Ann. Inst. Past., 1931, 46, 110.
- (13) DUMAS. — Bactériologie médicale, Paris, Flammarion, 1951-1964.
- (1) ESCHERICH. — Darmbakterien des Säuglings, Stuttgart 1886 et Handbuch des Bakt., Kolle-Wassermann, 1902.
- (4) FASQUELLE R. — Eléments de bactériologie médicale, Flammarion, Paris, 1957, p. 41.
- (92) FINGER H. — Zeitschr. Immunit. Forsch. 1961, 122, 15 et Deutsch. Med. Woch., 1965, 90, 533.
- (90) FREDER et GANGAROSA. — Deutsch. Med. Wochenschrift, 1964, 89, 952.
- (47) FREDERICQ et LEVINE. — J. Bact., 1947, 54, 785.
- (79) GASTINEL P. — Précis de Bactériologie Médicale, Masson, Paris, 1957, p. 406.
- (77) GEILINGER. — Mitteilg. Lebensmittel und Hygiene eidgens, Gesundheitsamt, 1921-1923, Vol. 12-14.
- (10) GOIFFON R. — Manuel de Coprologie clinique, Masson, Paris, 1942.
- (46) GRATIA et FREDERICQ. — Bull. Soc. Chim. Biol., 1947, 29, 354.
- (72) GRIFFITH F. — The signifiacnce of pneumococcal types. Journ. Hyg., 1928, 27, 113.
- (28) GRIMBERT L. — Diagnostic des Bactéries par leurs fonctions biochimiques. Thèse Méd. Paris, 1903.
- (50) HALBERT et MAGNUSSE. — Dumas « Bactériologie Médicale », Flammarion, Paris, 1951, p. 385 c.
- (81) HALLMANN L. — Bakteriologie und Serologie, Stuttgart, Thieme, 1961, 908.
- (93) HASSMANN. — Ergebnisse der inneren Medizin, 1938, 55.
- (19) HAYES. — Recombination in Bact. coli K 12 : unidirectional transfer of genetic materiel. Nature, 1952 a, 169, 118-119.
Genetic recombination in Bact. K 12 : analysis of the stimulating effect of ultraviolet light. Nature, 1952 b, 169, 1017-1018.
- (49) HEATLEY et FLOREY. — Dumas « Bactériologie Médicale », p. 385 e, Flammarion, Paris, 1951.
- (62) JACOB, LWOFF, SIMINOWITCH et WOLLMAN. — Définitions de quelques termes relatifs à la lysogénie. Ann. Inst. Past., 1953, 84, 222.
- (91) JOHNSON A. G. et collaborateurs. — Journ. exp. Med., 1956, 103, 225 et Journ. Immunol., 1959, 82, 415.
- (66) JUDE A. et NICOLLE P. — Ann. Inst. Past., 1949, 77, 550 et Ann. Inst. Past., 1953, 84, 27.
- (24) KAUFMANN. — Dumas « Bactériologie Médicale », Flammarion, Paris, 1951, p. 399 c.
- (35) KAUFMANN. — Zentralbl. der Bakteriologie. I^{er} Abt. Originale, 1939, 31, 113-148 et Zeitschr. Hyg., 1935-1936, 117, 26.
- (41) KAUFMANN F. — Acta. Path. et Microbiol. Scandinave, 1944, 21, 72.
- (45) KAUFMANN P. et BACOCKE. — Entérobacteriaceae ; Sjner. Munksgaerd, Copenhagen, 1951.
- (44) KNIBSCHILDT H. E. — Acta. Path. Microbiol. Scandinave, 1946, 23, 179.

- (34) KRISTENSEN. — Standard methods for examination of water and sewage, 9^e Ed., 1946 et Cassagne : « Milieux de Culture ». Inst. Past., p. 210.
- (64) KRISTENSEN M. — Zeitschr. Hyg., 1938, 121, 129.
- (88) KUMPER C. — Bakteriologische Stuhlbefunde nach oraler Colizufuhr, Thèse Med., Bonn, 1962.
- (31) LAMBIN S. — Substances antibactériennes ; dans Dorvault : La nouvelle officine, Paris, Vigot Frères, 1955, p. 968-990.
- (39) LE CLECH E. — La coproculture par les milieux deshydratés américains, Thèse Doct. Pharm., Strasbourg, 1949.
- (21) LEDERBERG. — Gell genetics and hereditary symbiosis. *Physiol. Rev.*, 1952, 32, 403-430.
- (85) LEINBROCK. — Zentralbl. Bakt. Abt. I^{er}, Orig., 1941, 147, 57-137, 1942, 148, 194.
- (27) LE MINOR. — Encyclopédie Scienc. Biol. Kister, Genève, 1961, p. 59. Le Diagnostic de Laboratoire des Entérobactéries, Collection Technique de Base, Edition de la Tourelle, Saint-Mandé (Seine), 1959.
- (86) LIGNY G. et VIGNIE R. — Agressologie, 1964, 3, 279-288.
- (76) LUMIERE A. — Ann. Inst. Past., 1921, p. 106.
- (57) LURIA, DELBUCK et ANDERSON. — Journ. Bactériol., 1943, 46, 57.
- (71) LWOFF A. et GUTMAN A. — Recherches sur un *Bacillus megatherium* lyso-gène. Ann. Inst. Past., 1950, 78, 711.
- (18) MACCAGAROT G. — La sexualité des Bactéries. Le monde des microbes par A. DELAUNAY. Encyclopédie Scienc. biol. Kisler, Genève, 1961, p. 30.
- (53) MACULA E. et COWLES P. B. — Sciences, 1948, 107, 376.
- (26) MARCHAL J. G. — Culture des Bactéries « Le monde des microbes » par A. DELAUNAY, Edit. Kisler, Genève, 1961.
- (17) MASCHAS H. — Encyclopédie Médico-chirurgicale (Colibacilliose), 1951, Vol. I, 25, 031, p. 1 à 6.
- (52) MAYER G. — Système fibrinolytique sérique et urinaire dans les maladies cancéreuses. Thèse Pharm., Strasbourg, 1964.
- (40) MEYER J., LE CLECH et LEVEQUE. — La coproculture par les milieux deshydratés américains. Thèse Pharm. Strasbourg, 1949 et, Méthodes modernes de diagnostic des Entérobactéries et leur rapport avec les toxi-infections alimentaires. Thèse Pharm., Strasbourg, 1954.
- (36) MULLER L. — Un nouveau procédé de différenciation des microbes des types Coli et Typhique. C. R. Soc. de Biologie, t. 87, 1922, p. 984-1251 et C. R. Soc. de Biologie, 1923, 89, 434.
- (60) NICOLLE P., HAMON et EDLINGER. — Biologie Médicale, Ed. Spéciale, Paris, 1953, 42.
- (11) NISSLÉ. — Handbuch der pathologischen Mikroorganismen, Kolle-Klauss, Vol. 6, p. 408 et Zentralbl. Bakt. Orig., 1957, 170, 286.
- (65) OLITZKI L., STUCZYNSKI et GROSSOWICZ. — Journ. Immun., 1949, 60, 419.
- (68) PARDEE A. B. et WILLIAMS T. — Enzymatic Activity and Bacteriophage Infection III. Increase of Desoxyribonuclease. Ann. Inst. Past., 1953, 84, 147.
- (16) PRÉVOT A. R. — Traité de Systématique bactérienne, Paris, Dunod, 1961.
- (59) PUTTMAN F. W. — Science (Lancaster Pa.), 111, 482, 1950.
- (30) QUIRIN G. — Recherche sur la caractérisation du genre Colibacille par la réaction au plomb. Thèse Doct. Pharm., Nancy, 1934.
- (89) RAMON G. — C. R. Soc. Biol., 1926, 94, 106 et Revue d'immunologie, 1936, 2, 415.

- (14) REPLOCH. — Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie und Infektionskrankheiten, Stuttgart, Fischer, 1961.
- (87) ROLLE et BURGER. — Arch. Hygiène, 1956, 140, 483.
- (56) RUSKA. — Arch. Virusforschung, 1942, 2, 345.
- (82) SARTORY A. et R. et MEYER J. — Microbiologie pratique. Maloine, Paris, 1950, p. 44.
- (9 a) SEELIGER et WERNER. — Ann. Institut Pasteur, 1963, 105, 5, 911.
- (9 b) SEELIGER. — Antibiotika and chemotherapia, 1960, 3, 15.
- (83) STRASBURGER. — Die Feces der Menschen, Berlin, Hirschwald, 1915, 4^e Ed.
- (42) SZABO K. H. L. — Zentralbl. Bakt., 1952, 157, 504.
- (33) TEAGUE. — Voir Cassagne « Milieux de culture », Inst. Past., p. 208 et Difco-Manual, 9^e Ed. Dutroît-Michigan, 1953, p. 294.
- (55) TWORT. — An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses, Lancet, 1915, 1241.
- (7) VINCENT F. — Compt. Rend. Ac. Scienc., 1925, 180, 239-407-1083-1624, 1942, 214, 400.
- (22) WOLLMAN et JACOB. — « La sexualité des bactéries », Masson, Paris, 1959.
- (6) WORMS, MERY et HUMMEL. — Bull. et Mémoires. Soc. Méd. Hop., Paris, 1955, p. 1194.
- (43) WRAMBY. — Acta Path. Microbiol. Scandinave. Suppl., 1946, 62, 1.
- (29) YOVANOWITCH. — Denigès « Précis de Chimie Analytique », Maloine, Paris, 1931, p. 68.
- (78) ZADEK. — Zentralbl. Bakt. I Orig., 1921, 73, 264.
- (51) ZINSSER et WILLIAMS. — Journ. Bact., 1949, 58, 501.
- (15) ZUBRZYCKI L. et SPAULDING E. — Etudes sur la stabilité de la flore fécale normale humaine. Journ. Breet., 1962, 83, 968.

Vu, Nancy, le 15 novembre 1966

Le Président de Thèse,

J.-G. MARCHAL

Vu et approuvé :

Nancy, le 15 novembre 1966

Le Doyen de la Faculté,

A. BERNANOSE

Vu et permis d'imprimer

Nancy, le 23 novembre 1966

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université,

P. IMBS

TABLES DES MATIÈRES

INTRODUCTION	IX
PLAN DE TRAVAIL	XIII

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE I

LA PHYSIOLOGIE DU TUBE DIGESTIF ET SA FLORE BACTERIENNE	1
---	---

CHAPITRE II

LA COLIBACILLOSE ET SA THERAPEUTIQUE CLASSIQUE	5
Médication biologique	8
Médications chimiques	10
Les sulfamides : antibiotiques synthétiques	11
Les antibiotiques biologiques proprement dits	11

DEUXIÈME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE III

MILIEUX DE CULTURE UTILISES POUR CARACTERISER LA FLORE INTESTINALE	13
Milieux à base d'hydrate de carbone	14
Milieux basés sur le pouvoir réducteur des Entérobactéries	17
Milieux à base d'antiseptiques	19
Milieux à base de métaux ayant une influence spécifique sur les bactéries du groupe Coli-Typhique	22

CHAPITRE IV

PROPRIETES SEROLOGIQUES ET LYSOGENIQUES DES <i>ESCHERICHIA COLI</i>	29
Méthodes pour l'identification sérologique d' <i>Escherichia coli</i>	32
Colicines	34
Action de la glycine	35
Les divers aspects caractérisant la lyse bactériophagique	37

LYSOTYPIE

Différentes étapes	37
LA LYSOGENIE ET SES APPLICATIONS	43

CHAPITRE V

ETUDE DU COMPORTEMENT DE LA FLORE INTESTINALE NORMALE	49
Discussion sur l'importance de la coliflore dans le fonctionnement physiologique du tube digestif	49
Expériences personnelles	50

CHAPITRE VI

ESSAIS DE BACTERIOTHERAPIE BUCCALE AVEC <i>ESCHERICHIA COLI</i>	63
CONCLUSIONS GENERALES	71
BIBLIOGRAPHIE	77

ACHEVÉ D'IMPRIMER
SUR LES PRESSES
DE L'IMPRIMERIE FABRÈGUE
A SAINT-YRIEIX
LE 3 JANVIER 1966

